With the author's Complements

馬伝染性貧血研究

第三報

EXPERIMENTAL REPORT ON EQUINE INFECTIOUS ANEMIA

III

北海道

（昭和33年）

HOKKAIDO PREFECTURAL GOVERNMENT

(1958)

序

馬の伝染性貧血による被害が独り馬のみに止まらず産業経済に及ぼす影響の大きいことは今更論議を要しないところであります。

道におきましては本病の解明のため昭和28年以降斯界の権威者に研究を委託しその研究成績は既に第一，第二報として刊行し貴重な文献としております。

今回更に東京大学伝染病研究所荒川清二博士からその後の研究成績について報告がまとまり更に矢追博士の追試もまとまつたので第三報として刊行の運びとなりましたことは喜びに堪えない次第であります。

茲に荒川博士並びに矢追博士の御研讃と御協力に対し深甚の敬意を表し序といたします。

昭 和 33 年 10 月

北海道知事　田　中　敏　文

目　　次

28, 1054

CONTENTS

Arch. ges. Virusforsch. 8, 621 (1959)

馬伝染性貧血（伝貧）に関する実験的研究
第1報　病毒をマウス脳又は孵化鶏卵に分離固定又は分離することについて※

東京大学伝染病研究所

荒川清二，兼子千秋，関　富　雄，武藤　進

先人の業績[1)2)3)]によるとマウスは伝貧病毒に対し全く感受性がないと見做された．従つて実験動物としては全然問題にならなかつた．しかるに Hallauer[4)] は最近伝貧病毒をマウスに感染せしめうることを報じたが，病原学的同定に迄は及んでいない．この際彼は病毒をマウスに固定することにも成功していない．

著者の一人荒川はデング熱[5)]，麻疹[6)]，流行性肝炎[7)]，トラコーマ[8)]及び水痘[9)]をマウス脳に分離固定したが，之等のウイルスは従来マウスを実験動物として使用できぬとされたものであつた．そこで是等のウイルス分離と同様の手技即ち約7g前後の幼若マウスを用いて伝貧病毒のマウス分離、固定を試み成功したので報告する．

実験方法

病毒材料：農林省家畜衛生試験場より分与頂いた有熱時の伝貧馬血清及び芝浦屠殺場に屠殺伝貧馬として送られた伝貧馬中高熱を有するものから採血した血清で，何れも肝臓穿刺による特異の鉄反応，貧血その他の臨床的検査で伝貧と確実に診断された馬からのものである．

実験用マウス：7瓦前後の幼若なるマウスを用いた．マウス接種：病毒材料を矢追針（皮内用）を用いて0.025cc脳内に接種した．継代には脳を無菌的にとり出して磨砕し，10％食塩水（pH 7.6）乳剤とし，3,000回10分遠心した上清である．

観察期間：接種マウス観察期間は最長3週間である．

実験用孵化鶏卵：8〜10日孵化卵を用い培養法は田中氏法[8)]（鈍円を上にして直立せしめて接種，培養する）によつた．継代は5日毎に行つた．孵化は37°C，培養は35°Cで行つた．

病毒中和試験：病毒材料（マウス脳10％乳剤，3,000回15分遠心上清）を10進稀釈し，血清を等量に混じて37°C 2時間放置時々振盪してから一夜氷室（0°C〜4°C）に放置してマウス（10g）の脳に0.025cc宛各四に注射して観察した．

補体結合反応：日本脳炎で行われる法に準じた．即ち大体 Casals[10)] の法に拠つている．抗原はマウス脳を0.35％食塩水（pH 7.6）に60°C、20分加温非働化した健康モルモット血清で10％乳剤とし，一夜（0°〜4°C）に放置し，3,000回30分遠心し，凍結融解5回行つてから，5,000回1時間遠心した上清．標準血清はマウス脳乳剤（10％）を5,000回30分行つた上清をモルモット脳に0.15cc接種，10日後再び同量同様に注射して2週間後採血したものである．

家兎免疫血清：A）伝貧馬血清材料によるものは No. 15（11月30，1951 採血）の発作時血清を体重2,230gの家兎に第1回20cc静脈注射後約100日目に第2回20cc静脈，17cc腹腔，第3回10cc皮下，15cc皮内，第4回15cc皮内，40cc腹腔，第5回15cc皮内，20cc腹腔，第6

※本第1報の概略は「生体の科学」4巻3号，47-48，1952に，本報は "Experimentelle Studien über das Virus der infektiösen Anämie der Pferde" と題し Wiener Tierärztliche Monatschrift, 40. JG. H. 6, S. 321-326, 1953 に掲載した．

回 30cc 腹腔，第7回 30cc 腹腔，第8回 30cc 腹腔，第9回 30cc 腹腔注射後衰弱の為全採血をして得た血清である.

B) マウス脳固定毒 No. 1 によるものは罹患マウス 10% 乳剤，3,000 回 30 分遠心して上清を第1回 0.1cc, 第2回 0.2cc，第3回 0.4cc，第4回 0.8cc 家兎に1週間隔で静脈注射し，1週間後一部採血して得た血清である（2月6日，1951 採血).

実験成績

i）分離固定試験

固定成績は第1表の如くであつて，小平 15 号馬（9月8日，1950）マウスのみによるものは7代（No. 1 株），孵化鶏卵通過のものは孵化鶏卵 17 代後マウス2代（No. 2 株）で固定，同じく No. 3 株（10月24日，1951 採血材料による）は3代で，又芝浦 No.152（11月21，1951 採血)，No. 154（11月21日，1951 採血）はそれぞれ9及び5代で固定した．即ち病毒接種をうけたすべてのマウスが一定潜伏期の後に脳炎症状を発起し，かつ死亡するに至つた．他3の材料からのものは 4〜6 代継代しても症状がはつきりしないので継代を断念した（第2表).

Table 1. Fixation of EIA virus to mouse.

Strain	Generation	Animal	Incubation (Days)	Inoculated mouse	Attacked mouse
No. 1 8. XI. 1950	1	Mouse	10	7	3
	2	〃	14	5	2
	3	〃	12	5	4
	4	〃	5	5	5
	5	〃	3	5	4
	6	〃	〃	5	3
	7(F)	〃	4	5	4
No. 2 8. XI. 1950	1	Hen's egg	5	4	4
	2	〃	5	4	4
	3	〃	5	4	3
	4	〃	5	4	3
	5	〃	5	4	2
	6	〃	3	4	3
	7	〃	5	4	3
	8	〃	5	4	2
	9	〃	5	4	2
	10	〃	5	4	2
	11	〃	5	4	3
	12	〃	4	4	3
	13	〃	5	4	3
	14	〃	5	4	2
	15	〃	5	4	3
	16	〃	5	4	2
	17	〃	5	4	
	18	Mouse	5	5	3
	19(F)	〃	5	5	3
No. 3 24. X. 1951	1	Mouse	5	6	4
	2	〃	3	5	2
	3(F)	〃	4	6	6
No. 152 21. XI. 1951	1	Mouse	5	5	3
	2	〃	5	5	2
	3	〃	4	5	5
	4	〃	5	5	5
	5	〃	6	6	3
	6	〃	5	5	5
	7	〃	5	5	5
	8	〃	3	5	4
	9(F)	〃	3	5	5
No. 154 21. XI. 1951	1	Mouse	5	5	3
	2	〃	5	5	2
	3	〃	5	7	5
	4	〃	5	5	3
	5(F)	〃	5	5	5

（F）: Fixation

Table 2. Unsuccessful fixation of EIA virus to mouse.

Material	Generation	Animal	Incubation (Days)	Inoculated mouse	Removed mouse-brain
No. 25	1	Mouse	7	5	5
13. XII. 1950	2	〃	5	5	5
	3	〃	5	5	5
	4	〃	5	5	5
No. 24	1	Mouse	5	5	5
7. I. 1950	2	〃	5	5	5
	3	〃	5	5	5
	4	〃	5	5	5
	5	〃	5	5	5
	6	〃	5	5	5
No. 24	1	Mouse	5	5	5
(Full blood)	2	〃	5	5	5
7. I. 1950	3	〃	5	5	5
	4	〃	5	5	5
	5	〃	5	5	5
	6	〃	5	5	5

ii) 同　定　成　績

A.　患馬血清で免疫した家兎血清は本病毒を中和するか．

分離固定材料（No. 1 株）と同じ伝貧馬血清（No. 15）を以つて免疫した家兎血清が本固定毒（No. 1 株）を中和するか否かを検べたところ第3表の如くで中和指数は $10^{3.09}$≒1230 で明かに中和される．

Table 3. Neutralization test of mouse-fixed virus with antiserum of native virus.

Mouse-fixed virus	Anti-native-virus	TLD	NIL	NI
No. 1.	Anti-native-virus	3.29	3.09	1230
	Normal	6.38		

Note: TLD: Titre (LD_{50}), logarithm of dilution
NIL : Neutralization Index logarithm
NI : Neutralization Index

B.　各株の血清学的異同

No. 1 株で免疫した家兎血清について各固定毒株に対する中和力を検べたところ第4表の如くで No. 1 株に対し中和指数 27550, No. 2 株に対し 5880, No. 3 株に対し 1860, No. 152 株に対し 1350, No. 154 株に対し 7,760 となり何れの株も血清学的に共通の抗原をもつていることが明かとなつた．

Table 4. Neutralization test of mouse-fixed EIA strains with antiserum of one of these strains (No. 1-strain).

Mouse-fixed virus	Anti-mouse-fixed-virus (No. 1)-serum	Normal serum	NIL	NI
No. 1	2.23	6.67	4.44	27550
No. 2	2.23	6.0	3.77	5880
No. 3	2.23	5.5	3.27	1860
No. 152	3.5	6.63	3.13	1350
No. 154	2.65	6.54	3.89	7760

C.　補体結合反応

固定毒 No. 1 株を抗原として小平患馬血清 No. 15 血清材料で免疫した家兎血清，標準モルモツ

ト血清についてみると第5表の如くで前者に1:8，後者に 1:4 迄陽性であつた.

Table 5. Complement fixation test with mouse-fixed virus and antiserum of native virus.

Serum	S C	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	N C
Anti-native-virus	0	4	3	2	0	0	0
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Standard	0	4	2	0	0	0	0

N.B.: Hemolytic system: 3 M.H.D. Complement: 2 full units.
Antigen: 4 units, S C : Serum control, N C : Antigen control.

考　　　察

緒言に述べたようにマウスに感受性がないとされた伝貧ウイルスの証明に再びマウスを用いたわけは，従来不可能視されたデング熱[5]，麻疹[6]，流行性肝炎[7]，水痘[9] 等のウイルスがマウスに馴化されたこと，しかもこれと同じ手段と方法では伝貧ウイルスの実験は行われていないように思われたからである．Hallauer[4] は流石に比較的若いマウス（体重 10g 以下）のものを用いたが，私の経験では継代には大きくてもたかだか体重 7g の幼若なものではじめて確実な感染が可能である．

マウス固定伝貧病毒を馬又は仔馬にかえすことはまだ行つていないが，家兎には確実に感染せしめることができた．正常マウス脳では家兎に貧血は起し得なかつた．これについては患馬血清とマウス固定毒の補体結合反応と共に後報したい．

結　　　論

1. 伝貧病毒をマウスに分離固定するには発作時の血清を体重 7g 程度のマウス脳に 0.025cc 注射する必要がある．

2. このウイルスは孵化鶏卵漿尿膜にも培養可能である．

3. マウス脳に固定したこのウイルスはその固定に用いた患馬の発作時の血清で家兎を免疫した血清で中和される．

4. この免疫家兎血清は伝貧固定毒との補体結合反応が陽性である．

文　　　献

1) Carrée, H., et Vallée, Rev. gen. med. vet. Toulse, 3, 593, 1906.
2) 臨時馬疫調査委員会研究成績（第II稿），16，1914.
3) Stein, C.D., and Mott, L.O., Vet. Med. Kansas City, 39, 408, 1944.
4) Hallauer, C., Schweiz. Arch. Tierhd., 91, 28, 1949.
5) 矢追秀武，荒川清二，日本医学，3319，244，1943.
Yaoi, H., and Arakawa, S., Japan. Med. J., 1, 4, 1949.
6) 荒川清二，日本医学，3418，7，1948.
Arakawa, S., Japan. Med. J., 1, 12, 1949.
7) 荒川清二，多ヶ谷勇，日本医学，3407，45，1946.
8) Arakawa, S., and Kitamura, O., Japan. J. Exper. Med., 20, 579, 1950.
荒川清二，北村修，関富雄，兼子千秋，日本眼科学会誌，55，543，1951.
9) Arakawa, S., Kondo, I., Seki, T., Kaneko, T., Wien. Klin. Wschr., 65. J.G., 574, 1953.
10) Casals, J., J, Immunol., 56, 337, 1947.

Experimental studies on equine infectious anemia
I. Fixation of virus to mouse-brain or to developing hen's egg.

Seiji Arakawa, Tiaki Kaneko, Tomio Seki, and Susumu Muto

The Institue for Infectious Diseases, The University of Tokyo

1. In order to isolate the virus of equine infectious anemia, it is necessary to draw serum from horses during an attack: then mice of 7g are inoculated intracerebrally with 0,025 of this serum.

2. This virus can be grown on the chorio-allontoic membrane of the chick embryo, too.

3. The serum of a rabbit which has been inoculated with serum drawn from the diseased horse during an attack of fever, neutralizes the virus being fixed in the mouse brain.

4. This antirabbit serum also gives a positive complement fixation test with the antigen of the fixed virus.

(Published in Wiener tierärztliche Monatschrift, 40.Jahrgang, Heft 6, S. 321-326, 1953).

馬伝染性貧血（伝貧）に関する実験的研究
第2報　病毒のマウス脳分離と孵化鶏卵培養実験続報

東京大学伝染病研究所

荒川清二，兼子千秋，関　富雄，武藤　進

著者等[1)2)]（1951，1952）は伝貧患馬発作時の血清7材料から4株を直接マウス脳通過でマウスに病毒を分離固定することができ，又1株は鶏卵通過 17 代目のものを接種して同じく幼若マウスに分離固定でき，これが免疫学血清学的に伝貧病毒と同定できることを報告した．

その後著者等は純鶏卵通過株をうるためと（1952），固定化の易化のため病毒濃縮材料（1953），患馬材料を健康馬に接種して初発熱直後の血清材料を用いる法（1957）による実験をくり返し，いずれも本病毒がマウス脳に分離固定されることをみたので報告する．

実験材料及び方法

病毒材料：1952 及び3の材料中家畜衛生試験場石井博士の厚意によつて得たものは同場 44 号馬の発作時の血清で，使用直前にそれぞれ分与をうけたものである．その他芝浦に伝貧馬として屠殺されるために送られた馬のうちから，発熱 40°C 内外の熱をもち貧血症状の判然とした馬の血清である．超遠心材料（1953）はL型スピンコ超遠心器の rotor ♯40 を用いて 100cc の血清を4万回転（約100,000G） 1時間沈澱し，原量の 1/50 又は 1/100 の生理食塩水にて沈渣を再浮游させ軽く遠心した上清である．1957の分は家畜衛生試験場より分与をうけた New Hampshire 株接種86号馬血清である．この材料を健康馬（肝臓穿刺及び採血によつて伝貧症状なしとされた）に接種して発熱最初の24時間以内の血清を用いた．

孵化鶏卵は白色レグホーン卵で 38°C，7〜9 日孵化したものを用いた。鈍円部を上にしてここに径約 1cm の穴を穿ち，卵殻膜をのぞいて材料を 0.2cc づつ滴下，滅菌ガラスで穴を被い，パラフインで密封してから 36°C で 4〜5 日培養した．培養後は卵殻を沃度チンキで消毒してから，ピンセツトで無菌的に漿尿膜をとり出して硬質ガラス粉を入れて磨砕し，生理的食塩水で約 20% の乳剤とし，軽く遠心した上清を次の継代又はマウス脳接種に用いた．

マウスは分離固定用には離乳直後の幼若な 7g 内外のものを用いたが，中和試験には 10g 前後のものを用いた．脳内には 0.02cc 常法に従つて皮内用矢追針（1/5）を用いて接種した．

同定用血清は 1952-3 では第1報に用いた自然毒超免疫家兎血清であるが，1957 では No. 1 株（旧小平 No. 15 株）免疫馬血清を用いた．

中和試験には上述のマウス4匹づつを用い，病毒の 10 進稀釈液に対し等量の免疫血清又は対照正常血清を加えてよく振盪し，37°C 2時間放置後氷室に1夜おいたものを上記の量をマウス脳内に接種し，3週間観察してから Reed-Muench の法で免疫血清及び正常血清処置各群の病毒の LD_{50} を得，免疫血清の中和指数を求めた．

実験成績

1）分離固定実験：第1表aに示すように 1952，5月10日に接種のものでは孵化鶏卵5〜4日培養で7代つなぎ，8代目にマウス5匹に接種したところ，何れも5日の潜伏期で全部発症した．この鶏卵通過株は爾来鶏卵のみ通過のまま現在（1958，3月10日）70代に及んでいる．同時に行つた

直接マウス通過は第1表bに示すごとくで，3代から固定しかけたように見えたが，結局8代を要した.

Table 1a. Virus isolation to mouse-brain by CAM culture (No. 6 strain).

Serum Material	Generation	Animal	Interval of culture	Passaged/Inoculated
	1	Hens' Egg	5	3/4
	2	〃	5	4/6
No. 44-horse	3	〃	4	1/5
	4	〃	5	2/4
	5	〃	4	3/5
	6	〃	4	2/5
	7	〃	5	3/4
10/V, 1952	8 *	Mouse	● 5 ● 5 ● 5	● 5 ● 5

● Attacked mouse. Numeral: Day of death
* : Fixed, Date: Begin of experiment

Table 1b. Direct isolation of virus to mouse-brain (No. 7—strain).

Serum material	Generation	Day of culture					Passaged/Inoculated
No.44-horse (10/V, 1952)	1	● 4	⦶ 5	○	○	○	2/5
	2	● 12	⦶ 12	⦶ 12	⦶ 12	△ 1	4/5
	3	● 8	● 4	⦶ 4	⦶ 4	⦶ 4	5/5
	4	● 6	⦶ 6	⦶ 6	△ 1	△ 2	3/5
	5	● 5	● 5	⦶ 5	⦶ 5	⦶ 5	5/5
	6	● 5	● 5	⦶ 5	⦶ 5	⦶ 5	5/5
	7	● 6	⊕ 6	⦶ 6	⦶ 6	▲ 2	4/5
	8 *	● 3	● 3	● 3	● 3	● 3	5/5
	9	● 3	● 3	● 3	● 3	● 3	

○ Normal mouse
⦶ Dubious mouse
● Attacked and dead mouse; Numeral: Day of death or slaughter
⊕ Attacked severely
* Fixed
▲ Accidental death

つぎに 1953にL型スピンコ超遠心器が購入されたので，3月7日超遠心して得た沈渣を 1/50 原容の生理食塩水浮游液軽遠心上清を孵化鶏卵及びマウスに接種した．この回は鶏卵1代通過のものを接種した処，6匹中3匹は4日に，他は5日目に発症した．4日目の分を次代マウスに植えた処，

全部3日の潜伏期で発症するようになつた（No. 8 株，第2表a）．しかるにマウス直接の方法は初代で6匹中2匹が6日目に，1匹が7日目に，8日目に残り全部が発症した．6日目の分を継代したところ，2代目で既に3日の潜伏期で発症するに至つた．即ちこの場合2代で固定した（No.9株，第2表b）．

Table 2a. Virus isolation to mouse-brain by CAM culture with ultracentrifuged and concentrated serum material (No. 8—Strain).

Serum material	Generation	Day of culture						Passaged/Inoculated
No. 44-horse	1	4						2/4
7/III, 1953	2	⊕ 4	⊕ 4	⊕ 4	● 5	● 5	● 5	3/6
	3 *	● 3	● 3	● 3	● 3	● 3	● 3	

⊕ Severely attacked mouse
● Attacked and dead mouse. Numeral: Day of death or slaughter
* Fixed

Table 2b. Direct isolation of virus to mouse-brain by concentrated serum material (No. 9-Strain).

Serum material	Generation	Day of culture						Passaged/Inoculated
No. 44-horse	1	● 6	● 6	● 7	● 8	● 8	● 8	2/6
17/III, 1953	2 *	● 3	● 3	● 3	● 3	● 3	● 3	

No. 10, No. 11株は芝浦屠殺場に送られた患馬血清材料を超遠心によつて精製濃縮し，電子顕微鏡撮影に使用した材料[3]を接種した．これは100倍濃縮のためか，自然罹患によるため毒力が本来強かつた為か，何れも初代ではつきりした症状をあらわした．従来[3]，No. 1，No. 2 として記載したものである（第3表）．

Table 3. Direct isolation of virus to mouse-brain by ultracentrifuged and 100 times concenentrated serum material (No. 10-and No. 11-strain).

Generation	No. 10 strain				No. 11-strain					
1 (4/VI, 1953)	● 6	● 7 ↓	● 7	○	○	● 4	● 5 ↓	● 5	● 5	● 5
2	● 7	● 8	● 8	● 8	● 8	● 4	● 4	● 5	● 5	● 5

● Attackd and dead mouse. Numeral: Day of death or slaughter
* Fixed

1957 の分は鶏卵接種（No. 12 株）は4代通過のものをマウス5匹に接種，11日，12日目に夫々2匹づつ発症死亡，1匹だけ生き残つたが，この4匹分を一緒にして次代マウス5匹に接種した処，

４日の潜伏期で全部発症死亡した（第４表ａ）.

マウス直接の分離（No. 13 株）では初代は脳内 0.02cc 接種の他に皮下に 0.2cc 注射した処，５匹中１匹生存したが，他は６，７日に１匹づつ８日に２匹発症死亡した．この４匹を次代５匹に接種したところ１匹は２日に死亡したが，残り４匹は５日に全部死亡するに至つた．然るに更に次代に接種したところ，全部４日で死亡した．その後本株の潜伏期は大体４日内外である（第４表ｂ）.

Table 4 a. Hen's egg strain (No. 12-strain) derived from New Hampshire strain.

Serum material	Generation	Day of culture	Passaged/Inoculated	Mouse inoculation
Serum of pony	1	5	3/3	
attacked by New	2	〃	3/3	
Hampshire strain	3	〃	3/3	
27/III, 1957	4	〃	2/3	● 11 ● 11 ● 12 ● 12 ○
				↓
	5	〃	3/3	*● 4 ● 4 ● 4 ● 4 ● 4

○ Normal mouse
● Attacked and dead mouse, Numeral: Day of death
▲ Accidental death
* Fixed

Table 4 b. Direct isolation of virus to mouse-brain. (No. 13-strain)

Serum material	Generation	Day of culture					Passaged/Inoculated
Serum of pony	1	● 6	● 7	● 8	● 8	○	1/5
attacked by New	2	▲ 2	● 5	● 5	● 5	● 5	4/5
Hampshire strain	3 *	● 4	● 4	● 4	● 4	● 4	5/5
17/IV 1957	4	● 4	● 4	● 4	● 4	● 4	

従来分離し得た13株の名，由来，通過動物，現在代数（1958, ３月10日）を表示すると第５表のようになる．即ち分離の順序に従つて番号を附して株名とした．このうち No. 2, 3, 7, 8, 9 の５株は整理処分したもので，現在 No. 1（９及び 30 代），No. 4（11 代），No. 5（９代），No. 6（70 代），No. 10 及び 11（５代），No. 12（９代），No. 13（８代）の８株を保存している．表中Ｅとあるのは純鶏卵通過を示す.

Table 5. List of isolated virus of EIA.

No. of strain	Derived from	Passaged animal	Present generation
No. 1	No. 15, 9/XI, 1950, Kodaira	Mouse	9 and 30
No. 2	〃	Mouse after 18 Generation of CAM culture	Discarded
No. 3	No. 3, 24/X, 1951, Kodaira	Mouse	〃
No. 4	No. 152, 21/XI, 1951, Sibaura	〃	11

No. 5	No. 154, 21/XI, 1951, Sibaura	Mouse	9
No. 6	No. 44, 10/V, 1952, Kodaira	Hen's Egg (CAM-Culture)	E70
No. 7	„ „	Mouse	Discarded
No. 8	„ 7/III, 1953, Kodaira	„	„
No. 9	„ 17/III, 1953, Kodaira	Hen's Egg (CAM-Culture)	„
No. 10	No. 1, 4/VI, Sibaura	Mouse	5
No. 11	No. 2, 4/VI, 1953, Sibaura	„	5
No. 12	New Hampshire 27/III, 1957 No. 86 Pony	Hen's Egg (CAM-Culture)	E9
No. 13	„ 17/IV, 1957	Mouse	8

3）自然毒免疫家兎血清又は固定毒免疫血清による中和試験

自然毒（患馬血清材料）の免疫家兎血清による中和試験は第6表a，bの如くで，No. 1 株に対して 2,640 の中和指数を示したが，No. 6 株（鶏卵株）に対し 760，No. 7 株に対し 3,200 であつた。同じく No. 8 株に対しては日本脳炎中山株免疫血清ではわずかに 2，伝貧自然毒免疫血清では2140であり，No. 9 株に対しては伝貧自然毒免疫血清では 214 であつて，明かに伝貧免疫血清と分離株は中和関係を示す.

次に No. 1 株で免疫した馬血清を，正常家兎血清を対照として中和試験を行つた処，免疫血清の力価が低く，原株の No. 1 株に対し 46 の中和指数を示したに過ぎなかつたが，No. 6 株に対し

Table 6a. Neutralization test with anti-native-E I A-virus serum.

Strain	Serum	Dilution of virus							LD_{50}	Neutralization index
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}		
No. 6	Anti-native-virus	2/4	2/4	1/4	0/4	.	.	.	1.75	760
	Control			4/4	2/4	1/4	0/4	0/4	4.65	
No. 7	Anti-native-virus	.	.	4/4	1/4	0/4	0/4	.	3.67	3200
	Control	.	.	.	4/4	4/4	3/4	3/4	7.17	
No. 1	Anti-native-virus	.	4/4	1/4	1/4	0/4	.	.	2.75	2640
	Control	.	.	.	4/4	3/4	3/4	0/4	6.17	

Table 6b. Neutralization test with anti-native-E I A- and Anti-Japanese-B-encephalitis-virus-serum.

Strain	Serum	Dilution of virus				LD_{50}	Neutralization index
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}		
No. 8	Anti-Japanese BEV	4/4	4/4	3/4	3/4	6.0	2
	Anti-native-E I A-virus	2/4	0/4	0/4	.	3.0	2140
	Control	.	4/4	4/4	3/4	6.33	.
No. 9	Anti-native-E I A-virus	3/4	0/4	0/4		3.33	214
	Control	3/4	3/4	2/4	1/4	5.66	

Table 6. Neutralization test with anti-fixed-virus (No. 1 -strain) -serum.

Strain	Serum	Dilution of virus 10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	LD_{50}	Neutralization index
No. 1	No. 1	4/4	4/4	0/4	0/4	4.5	46
	Control	4/4	4/4	4/4	1/4	5.66	
No. 6	No. 1	4/4	1/4	0/4	0/4	3.56	10
	Control	4/4	4/4	2/4	0/4	4.66	
No. 10	No. 1	4/4	3/4	1/4	0/4	4.5	13
	Control	4/4	4/4	4/4	1/4	5.66	
No. 11	No. 1	4/4	4/4	2/4	1/4	5.25	18
	Control	4/4	4/4	4/4	4/4	6.5	
No. 12	No. 1	4/4	3/4	0/4	0/4	4.33	148
	Control	4/4	4/4	4/4	4/4	6.5	
No. 13	No. 1	4/4	4/4	1/4	0/4	4.66	69
	Control	4/4	4/4	4/4	4/4	6.5	

10, No. 10 株に対し 13, No. 11, 12、13 に対しそれぞれ 18, 148, 69 であつた（第6表c），本表a， bの No. 1 株，No. 6 株間の中和関係を対比すれば右株は当然相互に共通の抗原性あることを示している．

考　　察

Carré et Vallée (1906)[4] 以来，佐々木及び城井 (1906)[5]、臨時馬疫調査委員会 (1914)[6] Stein and Mott(1944)[7] その他多数の報告[8] に徴すると，マウスは伝貧病毒に対し感受性がないと見做された．従つてマウスは実験動物としては問題にならなかつた．然るに Hallauer (1949)[9] は伝貧病毒に対するマウスの感受性について詳細に検討し，マウスに感受性あることをみたが，馬伝貧病毒との病原学的同定には確乎たる成果をあげていない．その際彼は 10g 以下のマウスを用いて病毒のマウス脳分離を試みたが不成功に終つた．Dreguss and Lombard (1954)[10] によると，病毒血清材料の脳内接種を行つた処，体重の減少は対照に比べ常に認められたし，接種4カ月後殺して剖見したら，多少脾臓が肥大していたのみで，その他に著しい変化は見受けられなかつたという．その後脳内に継代接種を 4〜6 代試みたが成功しなかつた．Fortner 及び Ulbrich (1954)[11] は哺乳マウスに対し患馬血清を脳内又は脳内及び腹腔内接種により分離を試みたが成功しなかつた．石井等 (1957)[12] もこれを追試して同様陰性であつたという．山極等 (1957)[13] は患馬リンパ節を材料としてマウス (7g 前後から 25g 前後) に接種したが，特別の所見を記載していない．著者等は哺乳マウスも使用した経験はあるが，抵抗力が弱すぎて死直後の材料を得ることは甚だ困難であつたため中止した．リンパ節は病毒分離のための材料としては無菌操作及び病毒の活性度に於て発作発熱時の血清に比し好ましくないように思われる．

著者等 (1950-) が比較的容易にマウスに病毒を分離し得たのは実に離乳直後の幼若マウス (7g 前後) を用い，これを丹念に観案し，「死亡直後」に継代するという根気の入る仕事に専念し得た点にあると思う．石井及び田淵等 (1954)[14] 越智等 (1955)[15] は著者等の仕事を追試したが陰性に了つたという．しかしこの点についての特別の考慮には欠けているように思われる．

マウスに直接病毒を分離する方法の他に，他の方法で病毒を増強できればこの方法も採用すべきである．前報に於ける No. 2 株の如く17代孵化鶏卵を通過しても病毒は継代むしろ増強されるのを

見た．今回もこの方法と比較すると共に，マウス自身にたまたま偶発したり，潜伏するマウス病毒の迷入をさける為にも純鶏卵株の必要を感じて実験をすすめ幸に No. 12 株を得た．又超遠心によつて病毒浮游液を濃縮すると，更に固定毒化は容易であるようである．同様の実験は電子顕微鏡試料調製の際精製濃縮病毒液接種の際にも経験した（No. 11，No. 12 株）．

本病毒の孵化鶏卵培養については Pinus 及び Pirog (1937)[16] がやり，U. S. Bureau of Animal Industry (1950)[17]で行はれ、ついで上述の Dreguss 等が漿尿膜，尿膜腔及び卵黄嚢接種を継続し，そのプールした材料を 10cc 皮下に，3cc を静脈内にそれぞれ1頭の健康馬にかえして，前者では発熱はなかつたが，赤血球の減少及びヘモグロビン量の低下を見，後者では13日目に軽い発熱があり，その翌日赤血球も多少減じた．又 35～41 日に軽い発熱（38.7°C）があり，その後も時々出たという．しかしはつきりした貧血はみせていない．後日2頭とも患馬血清接種で発症したという．又伝貧病毒が培養されているならば New Castle 病毒の赤血球凝集反応が伝貧病毒の干渉によつて抑制される期待で行われた実験も決定的ではなかつた．この際孵化鶏卵を必ずしも致死させなかつた．しかし彼は恐らく孵化鶏卵で培養できるとしている．

病毒の存在を馬への復元及びその後の免疫成立によつて立証する際には，発病するに足るだけの充分な病毒の量乃至は質が必要で，免疫がたとえ成立していても，この免疫を打破る程度の強い力価の病毒で攻撃をうければ当然発症する．又孵化鶏卵で病毒が培養されていても，必ずしも胎児は死亡しないし，健常胎児でも死ぬことがある．従つて病毒が果して培養されたかどうかは血清学的免疫学的の方法によるのが一番判然とする．先人の業績でこの点が等閑視されたのは遺憾であつた．著者等は第1報に於て患馬血清材料即ち自然毒で免疫した家兎血清は本病毒を中和するが，健康血清は中和せず，又本固定毒を抗原として補体結合反応を行うと特異的に陽性に出ることを証明し，本固定毒が伝貧に由来していることを立証した．今回分離した病毒も No. 1 株免疫血清又は自然毒免疫血清で特異的に中和されることをみた．その後本固定毒を抗原として患馬と診断された血清について 1956 に 69 頭，1957 に 168 頭に対して補体結合反応を行い，それぞれ 71% 及び 77% の陽性，又 Ramon 及び Verge 両教授の厚意によりフランスより送られた伝貧のない土地の健康馬15頭については1例の陽性例もなく，同じフランスより送られた伝貧馬血清では陽性であることをみている[18]．病毒の大さの点[4] でも限外濾過試験並に電子顕微鏡の上から自然毒のそれと略一致している．

従つてこれらの点は本固定毒が伝貧の病原に由来することを首肯せしめる有力な根拠を与えている．

結　　語

1）伝貧病毒はマウス脳に分離固定しうる．

2）伝貧病毒の孵化鶏卵培養も可能で，マウス分離にも役立つ．

3）現在までに13株を分離し得たが，各株は自然病毒による免疫血清又は固定毒 No. 1 株免疫血清による中和試験上少くとも共通の抗原性をもつ．

4）分離病毒株の病原学的同定上の根拠について述べた．

終りに本研究については北海道庁の援助をうけた．ここに謹んで田中敏文知事，金丸三郎総務部長，内海勝前及び福岡武二現農務部長，田中畜産課長，木田，山本，石本各技師その他道庁関係諸氏の御援助を感謝する．又材料の一部を提供された農林省家畜衛生試験場石井，星両博士他関係諸氏並に芝浦屠殺場中島検査室長はじめ各位の御懇情を感謝する．

本研究遂行上常に御懇な御激励を忝くした恩師矢追秀武教授並に本学名誉教授故細谷省吾博士に深甚の謝意を表する．

文　　献

1) 荒川清二，兼子千秋，関富雄，武藤進，生体の科学，4, 47, 1952.
2) Arakawa. S., Kaneko, T., Seki, T., und Muto, S., Wiener Tierärztl. Mschr., JG. 40, 321, 1953.
3) Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T., und Muto, S., Yokohama Med. Bull., 8, 48, 1957.
4) Carré, H., et Vallée, H., Rev. gén. méd. vét., Toulose, 8, 593, 1906.
5) 臨時馬疫調査委員会：臨時馬疫調査委員会研究成績（Ⅱ），1914.
6) 佐々木富弥，城井尚義，細菌学雑誌 167 号，609，1906.
7) Stein, C.D., and Mott, L.)., Vet. Med. Kansas City, 39, 408, 1944.
8) 田嶋嘉雄：葛西勝弥監修馬の伝染性貧血，上，68，1949.
9) Hallauer, C., Schweiz. Arch. Tierhk., 91, 28, 1949.
10) Dreguss, M.N., and Lombard, L.S., Experimental Studies in Equine Infectious Anemia, University of Pennsylvania Press, Philadelphia, 1954.
11) Fortner, J., et Ulbrich, F., Bull. Off. Int. Epiz., 42, 737, 1954.
12) 石井進，小林和夫，平沢澄，高橋勇，第43回日本獣医学会記録（東京），69題，1957.
13) 山極三郎，大島寛一，藤本胖，大林正士，小野威，佐藤博，北山晴彦，中松正雄，小野斉，馬伝染性貧血報告，Ⅱ，81，北海道庁、1957.
14) 石井進，田淵英一，小林和夫，山本春弥，同上 Ⅰ，93，1955.
15) 越智勇一，尾形学，同上 Ⅰ，85，1955.
16) Finus, A.A., and Pirof, P.P., Sovyet Vet., 14, 30, 1937. 8) p.108 より引用.
17) Repotrs, Chif of the Bureau of Animal Industry, U.S. Dept. Agric. Washington, 1951, p. 40, 1951. 8) p. 108 より引用.
18) 荒川清二，兼子千秋，武藤進，馬伝染性貧血報告，Ⅲ，33，北海道庁，1958.（一部1957，伝貧委員会報告）.

Experiment studies on equine infectious anemia (EIA)
II. Further outcomes in fixation of the virus to mouse-brain and developing hen's egg

by

Seiji Arakawa, Tiaki Kaneko, Tomio Seki, and Susumu Muto

The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo

Equine infectious anemia virus can be isolated in mouse by repeated passage in brain of young mouse weighing about 7g just after weaning directly or after repeated passage of chorioallantoic membrane of hen's egg. Thirteen strains were isolated in 1952–1957. Each strain has a common antigenicity in neutralization test with anti-native-virus serum or anti-mouse-fixed virus (No. 1-strain) serum.

馬伝染性貧血（伝貧）に関する実験的研究
第3報　伝貧固定毒の限外濾過試験と伝貧固定毒及び自然病毒材料による電子顕微鏡写真について

東京大学伝染病研究所

荒川清二，兼子千秋，関　富雄，武藤　進

伝貧の病原体が濾過性であることについては Vallée et Carré (1904)[1] が無菌的伝貧馬血清 100cc を馬に注射して発症せしめて以来，Ostertag (1907)[2], Hempel (1909)[3], Theiler and Kehoe (1915)[4] 等によつて追認された.

Balozet (1939)[5] は限外濾過試験で平均孔径 100 mμ の膜は通るが，52 mμ のそれでは通らないから本ウイルスの大さは 18～50 mμ だとした. Reagan その他 (1950)[6] は電子顕微鏡で 11～59 mμ の球状の小体を認めた. 石井等 (1952)[7] は 25～50 mμ の粒子を，蓮見 (1955)[8] は 35～65 mμ, 西等 (1957)[9] は 20～50 mμ の粒子をみとめた. 最近田淵等 (1957)[10] は本病毒を分割遠心で精製して沈降常数を求め水和を 30% とすれば 22 mμ であるという.

著者等 (1952～)[10] はさきに本ウイルスが孵化鶏卵に培養できる許りでなく，マウス脳にも分離できることを報告した. その際この病毒は馬血清材料を以つてした自然ウイルス免疫家兎血清で中和試験及び補体結合反応により，伝貧ウイルスと同定することができた. そこでそのウイルスの大きさは果して自然ウイルスと同じであるかどうかの問題に逢着し，これを検べこの点からも略同定することが出来たので，一部は既に報告 (1953, 1957)[11][12] したが，玆には その後の成績をも含め一括して報告する.

材料及び方法

ウイルス材料： 固定毒では No. 1 株，自然毒は発作発熱時の患馬２頭よりそれぞれ採血，血清としたものである. 日本脳炎ウイルスは中山株を用いた.

限外濾過材料としては罹患マウス脳又は孵化鶏卵漿尿膜材料を夫々 3% に含む Hartley 肉汁 (pH 7.6) 乃至は非働化正常モルモツト血清を含む蒸溜水を以てした. 之を 3,000 回転15分遠心し，上清を砂パルプ濾過器を通過し，平均孔径 530 mμ の Gradocol 膜を通過して母液とした. 病毒の力価はマウス３匹づつを用いて十進稀釈したウイルス液を 0.02cc づつマウス脳内に接種し，３週間観察した. Gradocol 膜は Elford[14] ―矢追[15] の方式でつくつた. 限外濾過は 1～1.5 気圧の陽圧で行つた. 各濾液はマウス10匹づつに夫々 0.02cc 脳内注射を行い３週間観察した.

中和試験は第１報と同じように行い，ウイルスの力価及び中和指数の算出も同様である.

電子顕微鏡撮影用のウイルス材料としては上述の如く患馬の発作時の血清を自然ウイルス出発材料とし，固定毒のそれは 10% のマウス脳生理食塩水浮游液を 3,000 回20分遠心した上清を５回凍結融解し，再び 3,000 回20分遠心した上清である. 各出発材料は Spinco 超遠心器Ｌ型で No. 40 の rotor を用い４万回（約 100,000×G）60分遠心した沈渣を原量の生理食塩水で浮游させ，3,000 回20分遠心し，上清を再び Spinco L, No. 40 の rotor で60分遠心し，沈渣を蒸溜水で原量の 1/20 に浮游させ上清を 3,000 回転20分遠心してその上清を電子顕微鏡撮影材料とした. この材料はマウス分離にも用いた.

写真は日立 HU-９型を用い 50 kV の下で撮影した. Shadowing にはクロムを用いた.

実 験 成 績

第1表に示すように Hartley の肉汁を用いたものは通りが悪く，114 mμ の膜では多少通過が悪くなる程度であるが 98 mμ では通らない．そこでこんどは 1% 正常モルモット血清を加えた蒸溜水浮游液で濾過を行つた処，114 mμ では軽く通過したが，98 mμ で困難となり，58 mμ では極めて困難，42 mμ で全く通らなかつた．同時に日本脳炎病毒浮游液を対照として限外濾過を行つた処，58 mμ は楽に通つたが，42 mμ では矢張り通らなかつた．通り方の量についてみると濾過に用

Table 1.

Ultrafiltration test of mouse-fixed EIA virus and Japanese B Encephalitis virus.

Virus strain	Material	Date	Average pore diameter	Positive pressure	Amount of filtrate obtained	Positive case/Number of mouse
No. 1	Mousebrain suspended in Hartley's bouillon	9 May 1951	154 mμ 114 98 42	1-1.5 Atm.	10 cc 8 7 6	10 ／ 10 8 ／ 10 0 ／ 10 0 ／ 10
		13 May 1951	530 154 114 98	〃	40 8 7 7	10 ／ 10 8 ／ 10 6 ／ 10 0 ／ 10
		15 May 1951	530 154 114 98	〃	50 8 8 7	10 ／ 10 10 ／ 10 10 ／ 10 0 ／ 10
No. 6	Hen's egg CAM suspended in aq. dest. added 1% normal guinea pig serum	26 June 1951	530 114 98 42	1-1.2	30 10 10 8	10 ／ 10 10 ／ 10 4 ／ 10 0 ／ 10
		28 Sept. 1951	530 114 98 42	〃	30 10 10 9	10 ／ 10 9 ／ 10 8 ／ 10 0 ／ 10
No. 4	〃	1 Feb. 1952	530 114 58 42 37	1-1.5	40 10 8 8 7	10 ／ 10 10 ／ 10 4 ／ 10 0 ／ 10 0 ／ 10
	〃	5 Feb. 1952	530 58 42 37	〃	40 7 7 6	10 ／ 10 10 ／ 10 0 ／ 10 0 ／ 10
No. 5	Mouse-brain (〃)	3 Feb. 1952	530 114 58 42 37	〃	40 10 7 7 7	10 ／ 11 10 ／ 11 6 ／ 11 0 ／ 11 0 ／ 11
No. 5	Hen's egg CAM (〃)	8 Feb. 1952	530 58 42 37	〃	40 8 7 7	10 ／ 10 6 ／ 10 0 ／ 10 0 ／ 10
Control	Japanese B encehalitis virus (Nakayama strain)	15 Feb. 1952	530 114 58 42 37	〃	50 10 8 8 7	10 ／ 10 10 ／ 10 10 ／ 10 0 ／ 10 0 ／ 10

Figs. 1 and 2. Electronmicrograph of native equine infectious anemia virus from attacked horse-No. 2 serum (upper) and mouse fixed equine infectious anemia virus from infected mouse brain (lower) shadowed with chromium. 1: 80,000. (1954)

いた量はそれぞれ 10cc に対し濾液は伝貧ウイルスは 7～8cc であつたが，日本脳炎ウイルスも 8cc で大差はなく，マウス罹患の状況からしても日本脳炎は10匹中10匹罹患に対し，伝貧ウイルスは6，6，10，4 匹で大差はないように思はれる．即ち Elford によるウイルスの大さは何れも42m-μ×0.33～0.5＝14～21 mμ 程度となつた．（第１表）そこで日本脳炎との鑑別が必要になつたので中和試験を行つてみた処，自然ウイルスで免疫した血清に対して No. 1 株は 2,130 の中和指数を示したが，日本脳炎ウイルスに対してはわずかに２に過ぎず，伝貧ウイルスが日本脳炎ウイルスとちがうことが判然とした
（第２表）.

Table 2.

Neutralization test of mouse-fixed EIA virus with antiserum of Japanese B Encephalitis virus and mouse-fixed EIA virus.

Virus	Antiserum	LD_{50}	Neutralization index
EIA (No. 6)	Japan. B.E. (Nakayama)	10^{-6}	2
	EIA (No. 1)	10^{-3}	2130
	Control	$10^{-6.33}$	

2）電子顕微鏡所見

２頭の患馬から得た像は合計69箇あつたが大体 20～60 mμ の球状に近い形状をしたものが見出された Fig. 1 No. 1 馬よりも No. 2 の馬材料からの方が比較的少数であつたが，マウスへの分離実験でも第３表に示すように No. 2 の方が楽であつた．

固定毒の基本小体は 119 箇を数えたが，大体 20～40 mμ の大さであつた（第２図）．形態の上からは固定毒も自然ウイルスも鑑別できない．この際２頭の馬からマウスに分離できた株が果して伝貧かどうか，固定毒血清で中和実験を行つた．成績は第３表の如くで本分離ウイルスも No. 1 株免疫血清で中和されることを知つた．

Table 3.

Neutralization test of No. 10-and No. 11-strains with No. 1-strain-serum.

Virus	Serum	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	LD_{50}	Neutralization index
No. 1	No. 1	4/4	4/4	0/4	0/4	$10^{-4.5}$	46
	Control	4/4	4/4	4/4	1/4	$10^{-5.66}$	
No. 10	No. 1	4/4	3/4	1/4	0/4	$10^{-4.5}$	13
	Control	4/4	4/4	4/4	1/4	$10^{-5.66}$	
No. 11	No. 1	4/4	4/4	2/4	1/4	$10^{-5.23}$	14
	Control	4/4	4/4	4/4	4/4	$10^{-6.5}$	

考　　察

伝貧病毒が濾過性のウイルスであることについては Vallée et Carré が無菌的に伝貧馬血清 100cc を馬に注射して発症せしめて以来，Ostertag, Hempel, Theiler 及び Kehoe 等によつて認められ，Balozet が限外濾過によつて本病毒の大さを 18～50 mμ としたことは上述の如くである．Elford に

よると終末点即ちウイルスが通過しなくなつた膜のうち最大の平均径の大きさのものが 100mμ 以下の場合は当該ウイルスの大きさは平均孔径 0.33～0.5 倍であるという．そこで Balozet が 100mμ では通るが 52mμ では通らなかつたので，最小 52mμ×0.33＝18mμ 最大 100mμ×0.5＝50mμ の間にあるとしたわけであろう．中井は第二次大戦中陸軍獣医学校より矢追教授の下に派遣され，矢追教授[16]と共に伝貧病毒の限外濾過を行つた．その際ウイルスは 60mμ では容易に通過したが，50mμ では非常に困難であつたという．われわれの成績では 58mμ で通り，52mμ で通らなかつた．従つて厳密に終末点を追究すれば 42～58mμ の間に終末点はあるわけであるが，この間の膜が手許になかつたので一応 42mμ を終末点とした．矢追一中井の成績からすると，50～58mμ の間ということになるかも知れない．従つて Balozet のいい方でいえば 14～29mμ ということになるが，ここでは Elford に従つた．さきに著者の一人荒川は矢追，金沢，村江と共に日本脳炎ウイルスの限外濾過実験を行つた．この時は終末点は 60mμ であつた．但しこの際は Hartley の肉汁をウイルス浮游液に用いたのであつた．この肉汁を用いると第1表でもわかるように，どうも通りが悪い．従つて若し当時今回のように 1％正常モルモット血清液を用いていたら終末点はもつと下つたであらう．本実験ではたまたま日本脳炎ウイルスと伝貧ウイルスは同じ終末点を示した．しかるに日本脳炎も本邦に淫浸しているので，或は日本脳炎病毒を伝貧と間違えているのかも知れぬという心配が起つた．そこで自然毒（伝貧患馬発作時の血清）で免疫した中和指数の高い血清で中和実験を行つたところ，第2表に示すように日本脳炎とははつきり区別することができた．

電子顕微鏡像では Reagan 等が 11～59mμ の球状の小体を報じている．石井等は 20～50mμ の粒子を出し，馬体復元にも成功したという。又蓮見は 35～65mμ の球状小体を報じ，これを抗原として患馬血清の特異的補体結合反応が成立するといい，西等は 20～50mμ の粒子を報告したが，これを抗原とする馬血清の補体結合反応では明確な特異性が見られなかつたという．但し対照健康馬は必ずしも伝貧を除外し得ない道産馬を使用している．蓮見の材料は特に脳症を起していない患馬の脳からも同様の物質を得ているようである．然らばこの特異抗原は Altara の抗原乃至脂質抗原[17]との鑑別も一応必要であらう．ここに示した写真は1953北海道にて開かれた日本獣医学会で示した一部であるが，自然毒からはマウス脳にウイルスを分離し，これが従来の No. 1 株免疫血清で中和されることをたしかめているし，写真その物も固定毒と自然毒では大さ形状に於て鑑別はむづかしい．本病毒は何れ更に精製して，免疫血清による凝集などを検する予定である．

結　　論

1. 伝貧固定毒の限外濾過試験によると終末点は 42mμ，従つて Elford によるウイルスの大さは 14～21mμ である．

2. 発作時患馬血清を材料とする自然病毒（ウイルス）の電子顕微鏡像は径20～60mμ，固定毒のそれは20～40mμであつた．

3. 電子顕微鏡撮影材料とした患馬血清材料よりマウスにウイルス分離固定し，従来のNo. 1 株免疫血清で同定された．

4. 本ウイルスは日本脳炎ウイルスと限外濾過試験による大さに於て近似するが，免疫学的には明白に区別される．

本研究は北海道庁伝貧委託研究費によること大である．玆に謹んで北海道知事田中敏文，総務部長金丸三郎，農務部長福岡武二の諸氏並に同庁田中畜産課長はじめ同課の各位の御厚情を深謝する．又本研究に当り恩師矢追秀武教授，故細谷省吾本学名誉教授東大農学部越智勇一教授はじめ関係各位の御激励又は御援助を忝くしたことを深謝する．

文　　献

1) Vallée, H. et Carré, H., Compt. Rend. Acad. Sci., 139, 331, 1904.
2) Ostertag, R., Z. Infekt. Haustiere, 3, 1, 1907.
3) Hempel, J., Z. Infekt. Haustiere, 5, 381, 1909.
4) Theiler, A., and Kehoe, D. 3rd and 4th Report, Director Vet. Research, Dept. Agric. South Africa (p. 217), Pretria, 1915.
5) Balozet, L., Compt. Rend. Acad. Sci, 209, 703, 1939.
6) Reagan, R.L., Lillie, M.G., Hichman, J.W., and Brueckner, A.L., Amer. J. Vet. Res., 11, 157, 1950.
7) 石井進, 田淵英一, 片田真弥, 日本獣医学雑誌, 14, 462, 1952.
8) 西　武, 小野悌二, 根岸孝, 北海道庁馬伝染性貧血研究報告 II, 33, 1957.
9) 蓮見喜一郎, 北海道庁馬伝染性貧血研究報告 I, 1, 1955 及び II, 1, 1957.
10) 田淵英一, 片田真弥, 渡瀬弘, 日本獣医学会雑誌, 19, 附録, 34, 1957.
11) 荒川清二, 兼子千秋, 関富雄, 武藤進, 生体の科学, 4, 47, 1952.
12) 荒川清二, 兼子千秋, 関富雄, 武藤進, 日本獣医学会雑誌, 16巻, 附録, 173, 1954.
13) Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T. und Muto. S., Yokohama Med. Bull., 8, 48, 1957.
14) Elford, W.J., J. Path. & Bact., 34, 305, 1931; Handb. d. Virusfor. hrg. v. R. Doerr und C. Hallauer, I. H., 126, 1938,
15) 矢追秀武, 中原和郎, 実験医学雑誌 19, 1753, 1935.
16) 矢追秀武, 中井幸教, 私信.
17) Serra, A., Itikawa, O., Guarini, H., Milone, M., Ambrosino, C., Liberatori., J., Bull. Office Intern. Epiz., 46, 626, 1956.

Experimental studies on equine infectious anemia (EIA)
III. Ultrafiltration test on the mouse-fixed EIA virusa nd electron-micrograph of the native and mouse-fixed EIA virus

By

Seiji Arakawa, Tiaki Kaneko, Tomio Seki, and Susumu Muto

The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo

1) The size of mouse-fixed equine infectious anemia virus has been estimated by means of Elford's ultrafiltration, using the graded collodion membrane. The filtration endpoint of the virus was estimated as to be 42 mμ so that the size of virus was calculated at 14～21 mμ by Elford's formula.

2) Native EIA virus in the infectious horse serum was purified and concentrated by fractional ultracentrifugation, then subjected to the electron microscopic investigation. Spherical particles with size of 20 to 60 mμ were observed in the visual field. Mouse-fixed EIA virus that was the 10% suspension of infected mouse-brain in saline water was purified and concentrated by the same way as mentioned above. Almost coincided with the size of the native virus, namely, the size of mouse-fixed virus was estimated as 20 to 40 mμ by electronmicroscope.

3) From the native virus material purified and concentrated by fractional ultracentrifugation two strains were isolated and fixed to mouse-brain.

4) The size of the virus by ultrafiltration coincides with that of Japanese B encepha litis virus. By virus neutralization test however the both viruses are quite different.

馬伝染性貧血(伝貧)に関する実験的研究
第4報※ 伝貧固定毒接種マウスの血液像と同仔馬復元試験

伝染病研究所

荒川清二，武藤進，村岡恒彦，鶴見登，兼子千秋，関富雄

前報[1)2)]に於て伝貧病毒がマウス脳及び孵化鶏卵に分離できること，この分離病毒は自然毒（患馬血清材料）で免疫した家兎血清で中和されるし，分離病毒を抗原としてこの自然毒免疫血清の補体結合反応を行つて陽性に出ることがたしかめられた．他方この伝貧マウス固定毒は限外濾過の上からも，電子顕微鏡の所見からも自然病毒と区別し難いことを報じた[3)4)]．そこで本病毒は果してマウスに貧血を起すかどうか．又馬にこの固定乃至馴化病毒を接種したら如何という問題について小実験を試みたので報告する．

実験材料及び方法

病毒材料：固定毒材料としては No. 1 株を用いた．マウス接種材料には 10% 罹患マウス脳生理食塩水乳剤，馬復元用材料には孵化鶏卵漿尿膜10%生理的食塩水浮游液を用いた．
この場合軽く遠心した上清を Spinco 超遠心器 rotor ♯ 40 で4万回（約100,000×G）60分遠心した沈渣を生理食塩水で 1/100 原量に浮遊し，軽く遠心した上清でこの病毒液のマウスに対する力価を Reed-Muench の方法によつて検べたところ，濃縮前の液は 10^{-5}，濃縮液は $10^{-6.3}$ であつた．これは 10% 罹患マウス脳乳剤よりやや高いか，略匹敵する程度にある．

使用マウス：血液検査用には主として 18g 内外の成熟マウスを用い，0.5cc づつ腹腔内に注射した．力価の検定には 10g 内外のものを用い，脳内に 0.02cc づつ注射している．マウスの採血は尻尾の尖端を暖めてから鋭利な安全剃刀の刄で出血させ採血直後火焔にて封じた．マウス飼料は一般には小麦及び少量の野菜を与えたが，第2マウス実験ではクロレラ飼料は市販合成飼料に 10% の割にクロレラ飼料，対照群ではクロレラの代りに大豆粉を 10% 加え1カ月飼育したものを使用した．

使用馬：健康な8カ月の当歳馬で肝臓穿刺及び血液検査により所謂伝貧症状のないことをたしかめた．採血は常に餌投与前の一定時間に行つた．血液検査器具は日本血液検査器械検定協会のA級検定に合格したものを用い日本血液学会の検査指示に従つた．血色素量 16g/dl がザーリ 100% となつている。

実験成績

マウス腹腔内接種成績（I）：第1表及び第1図に示すように，5匹の平均は接種前赤血球数995万血色素量 13.15g/dl であつた．しかるに接種3日では体重平均 0.6g 増，赤血球数及び血色素量は838万及び 10.9g/dl に対し，対照815万及び 13.2g/dl で赤血球数にはまだ差はでていないが，血色素量は相当低下してきている．7日目では接種群は1匹死亡したが，平均赤血球 653 万，血色素量 9.8g/dl と低下したのに対照は 938万，12.8g/dl と常態に復した．両者の血色素量は危険率1%以下で統計学的にも有意の差がある．接種群は11日目には2匹になつたが，この2匹の平均は 590万，8.8g/dl と著しく低下した．

※　本研究の一部は昭和30年4月，第38回日本獣医学会に報告した[5)]

Table 1. Inoculation of mouse-fixed virus (No. 1-strain) to mice.

A. Experimental group.

	Days	BI	3	7	11
1	BW (g)	18.0	19.0	18.5	16.5
	RBC (Mill)	8.16	8.10	6.00	5.40
	Hb g/dl	11.3	9.7	9.7	9.7
2	BW (g)	17.5	18.0	16.0	15.5
	RBC (Mill)	9.60	9.60	5.60	6.40
	Hb g/dl	13.5	12.4	10.1	7.8
3	BW (g)	17.5	17.0	15.5	
	RBC (Mill)	9.30	7.90	7.50	
	Hb g/dl	14.5	12.8	9.5	
4	BW (g)	19.5	21.0	20.0	
	RBC (Mill)	12.00	7.90	7.04	
	Hb g/dl	15.2	10.4	10.1	
5	BW (g)	16.0	16.5		
	RBC (Mill)	10.70	8.40		
	Hb g/dl	12.8	9.7		
Mean	BW (g)	17.7	18.3	17.5	16.0
	RBC (Mill)	9.95	8.38	6.53	5.90
	Hb g/dl	13.5	10.9	9.8	8.8

B. Control group.

	Days	BI	3	7
1	BW(g)	20.0	21.5	19.5
	RBC(Mill)	12.00	12.50	11.20
	Hb g/dl	15.0	15.2	14.5
2	BW (g)	20.5	21.5	19.5
	RBC(Mill)	9.90	9.70	10.40
	Hb g/dl	16	16	14.8
3	BW (g)	19.5	20.5	18.5
	RBC(Mill)	8.50	8.90	8.20
	Hb g/dl	11.3	11.3	10.7
4	BW (g)	17.0	17.0	15.5
	RBC(Mill)	9.40	7.40	8.40
	Hb g/dl	12.8	12.0	11.3
5	BW (g)	18.5	18.0	14.5
	RBC(Mill)	9.60	9.20	8.70
	Hb g/dl	12.4	11.3	11.9
Mean	BW (g)	19.1	19.7	17.5
	RBC(Mill)	9.90	8.15	9.38
	Hb g/dl	13.5	13.2	12.8

Note: BW: Body weight
RBC.: Red blood corpuscles
Hb: Hemoglobin content
BI.: Before inoculation

Mill=Million

Fig. 1 Inoculation of mouse-fixed virus (No. 1-strain) to mice.

A. Figure of hemoglobin contet.

B. Figure of erythrocytes number.

マウス腹腔内接種実験2：クロレラ飼育群9匹，普通飼料飼育群10匹に，それぞれ伝貧固定毒罹患マウス脳 10％ 乳剤遠心上清0.5ccを注射し，対照として普通飼料飼育群8匹を使用し，病毒接種後10日及び20日目に第2表及び第2図の如く大体半数ずつ殺して血液所見を検査した．対照群では10日目で4匹平均でそれぞれ体重約 1g 増，赤血球数は約 100 万増，血色素量に変りはなかつたが，クロレラ群では5匹平均で体重は 2g 減少，赤血球数は191万減少，血色素量は 13.3g/dl から 12.2 g/dl となり，普通飼料飼育群では5匹平均体重は 1g 減，赤血球数299万減，血色素量は 13.9g/dl から 11.7g/dl となつている．又20日目になると対照群は4匹平均体重 2g 増の他赤血球数 946 万から 975 万，血色素量 12.5g/dl から 11.9g/dl となつている．即ち血球数に変化なく，血色素量にも大した変化は認めない．固定毒接種普通飼料群では4匹平均で体重に増加なく，赤血球 975 万が 885 万になり，血色素量が 12.7g/dl から実に 8.0g/dl に下つている．固定毒接種クロレラ飼育群では3匹平均で体重には大した変化はなかつたが，赤血球数は 1,026 万から830万に，血色素量は14.2g/dl から 10.6g/dl と普通飼料群ほどではないが矢張り減少している．

Table 2.

Inoculation of mouse-fixed virus (No.1–strain) to mic, II

A. Standard feed* group.

	Days	B I	10		Days	B I	20
1	BW(g)	16.0	16.0	1	BW(g)	16.5	18.0
	RBC(Mill)	10.50	8.90		RBC(Mill)	11.00	8.90
	Hb g/dl	12.8	10.9		Hb g/dl	13.7	8.75
2	BW(g)	13.5	11.0	2	BW(g)	15.0	15.5
	RBC(Mill)	7.80	7.20		RBC(Mill)	9.80	9.00
	Hb g/dl	13.2	11.3		Hb g/dl	12.8	11.3
3	BRW(g)	15.0	14.5	3	BW(g)	17.5	17.5
	RBC(Mill)	23.00	11.00		RBC(Mill)	9.00	8.60
	Hb g/dl	19.5	12.8		Hb g/dl	11.3	8.9
4	BW(g)	16.0	13.0	4	BW(g)	21.0	20.0
	RBC(Mill)	9.60	9.70		RBC(Mill)	9.20	8.90
	Hb g/dl	12.8	12.0		Hb g/dl	12.8	10.4
5	BW(g)	14.5	14.0	5	BW(g)	18.0	
	RBC(Mill)	9.80	9.50		RBC(Mill)	9.80	
	Hb g/dl	12.0	11.3		Hb g/dl	14.1	
Mean	BW(g)	14.7	18.7	Mean	BW(g)	17.6	17.6
	RBC(Mill)	12.10	9.21		RBC(Mill)	9.75	8.85
	Hb g/dl	13.9	11.7		Hb g/dl	12.7	8.0

※: Wheat and vegetables

本実験は臓器殊に脾臓と肝臓の病理所見を検する予定であつたが，材料を故宮崎吉夫教授にお願いしてあつた所，同教授の急逝にあい，材料の大分が行方不明となつて了つたので，何れ再実験する予定である．

Fig. 2. Inoculation of mouse-fixed virus (No. 1-strain) to mice II

A. Figure of Hemoglobin content. B. Figure of erythrocytes number.

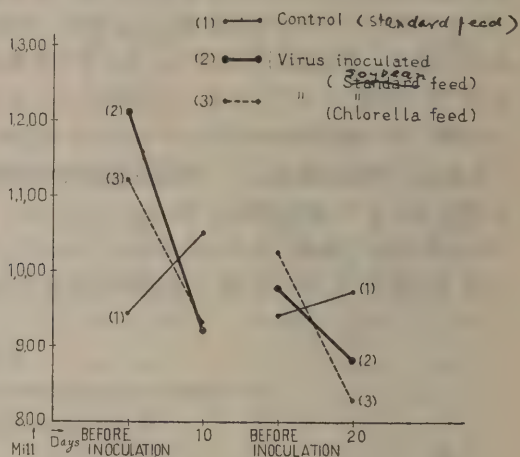
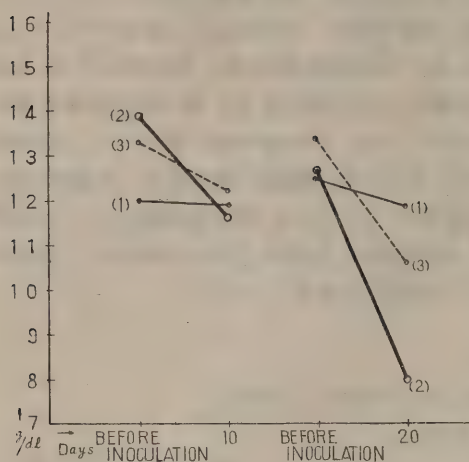



Table 2.

B. Chlorella feed* group.

	Days	B I	10
1	RW(g)	12.5	10.0
	R B C (Mill)	12.00	9.60
	H b g/dl	12.8	12.2
2	RW(g)	13.5	11.0
	R B C (Mill)	11.50	9.37
	H b g/dl	12.0	11.0
3	RW(g)	17.5	13.0
	R B C (Mill)	10.60	8.07
	H b g/dl	13.2	14.1
4	R W(g)	14.5	14.0
	R B C (Mill)	10.80	10.00
	H b g/dl	14.5	12.0
5	RW(g)	13.5	13.0
	R B C (Mill)	11.20	9.50
	H b g/dl	14.0	10.9
Mean	RW(g)	14.5	12.5
	R B C (Mill)	11.22	9.31
	H b g/dl	13.3	12.2

	Days	B I	10
1	RW(g)	13.5	
	R B C (Mill)	11.50	
	H b g/dl	14.5	
2	RW(g)	16.5	14.5
	R B C (Mill)	12.00	9.10
	H b g/dl	15.2	10.9
3	RW(g)	13.5	13.0
	R B C (Mill)	9.60	6.90
	H b g/dl	12.0	9.6
4	RW(g)	14.5	13.0
	R B C (Mill)	9.20	8.80
	H b g/dl	15.1	70
Mean	RW(g)	14.8	15.0
	R B C (Mill)	10.26	8.30
	H b g/dl	13.4	10.6

※ consisted of 1 part of chlorella-meal and 9 parts of "complete feed for mice" (Oriental yeast co.) containing crude protein 24.93%, fat 5.53% carbohydrate 48.12 %, fiber 3.58 %, ash 6.29%, and others.

Table 2.
C. Control feed* group.

	Days	B I	10		Days	B I	20
1	RW(g)	13.0	16.5	1	RW(g)	17.0	21.5
	RBC(Mill)	10.10	11.70		RBC(Mill)	9.25	9.60
	Hb g/dl	12.8	12.4		Hb g/dl	12.0	11.7
2	RW(g)	14.5	14.0	2	RW(g)	17.0	15.5
	RBC(Mill)	8.40	9.80		RBC(Mill)	9.70	9.50
	Hb g/dl	12.0	11.35		Hb g/dl	12.5	10.9
3	RW(g)	14.5	15.5	3	RW(g)	18.5	20.0
	RBC(Mill)	9.50	10.10		RBC(Mill)	8.70	8.70
	Hb g/dl	12.0	11.4		Hb g/dl	13.2	12.8
4	RW(g)	17.5	17.5	4	RW(g)	16.0	19.5
	RBC(Mill)	9.90	10.50		RBC(Mill)	10.20	11.20
	Hb g/dl	12.0	12.4		Hb g/dl	12.2	12.0
Mean	RW(g)	14.9	15.9	Mean	RW(g)	17.1	19.1
	RBC(Mill)	9.48	10.52		RBC(Mill)	9.46	9.75
	Hb g/dl	12.2	11.9		Hb g/dl	12.5	11.9

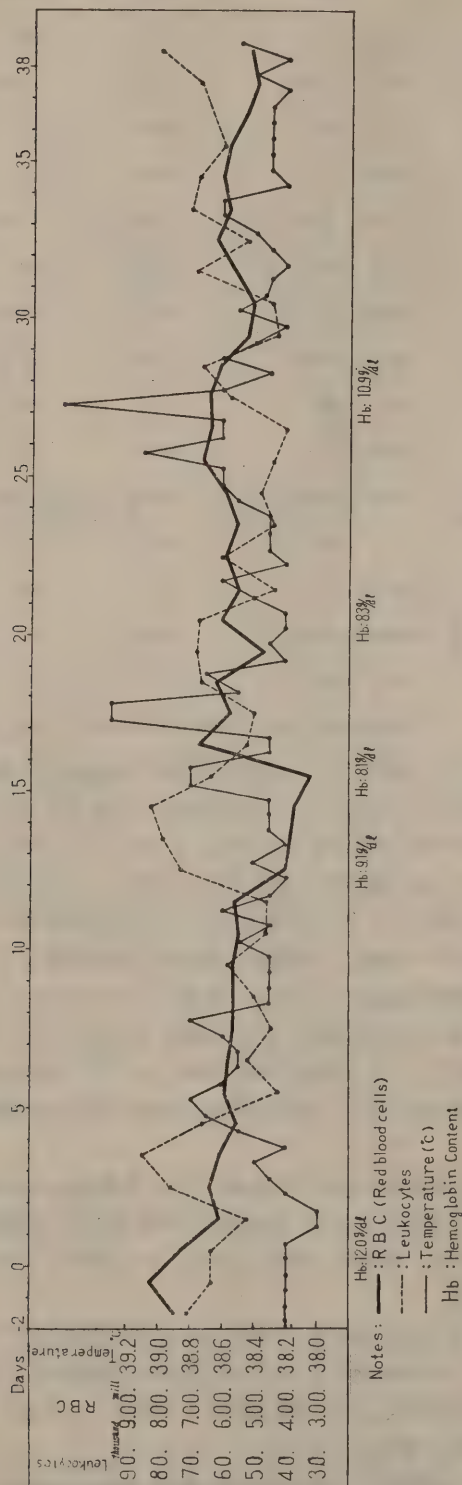
※: consisted of 1part of soybean-meal and 9 parts of "complete feed for mice"(Oriental yeast co.)

固定毒仔馬接種成績： 静脈に濃縮液 110cc, 皮下に濃縮しない 10% 漿尿膜食塩水乳剤 200cc を注射した．熱型，赤血球数及び白血球数は第3図の如くであつて，熱は接種前の 38.2°C から翌日 38.0°C となり，第3日より多少上りはじめ，第5日及び第7日 38.8°C となつたが、一時低下，第15日に再び 38.8°C に上り，翌日 38.3°C に下つたが，第17日に 39.3°C と上昇し，翌日から下降，第25日に 39.1°C，第27日 39.5°C と上り，又下降した．即ち接種17日と27日に発熱があり，忽ち下熱している．一般状態は接種翌日食欲及び元気やや衰え，眼結膜，鼻粘膜の充血があつた．第3日食欲恢復，元気も多少よくなる．眼結膜，鼻粘膜充血あり．第4日食欲，元気旧に復す．軟便．眼及び鼻粘膜充血．第5日被毛の光沢稍なし．第6日前日同様，第7日食欲 1/3 に衰え，元気なく，第8日以来粘膜貧血症状あらはれ，心音に雑音きこゆ．第12日横臥が特に目立つ．第15日心音の雑音強し．第 15～17 日干草食せず．以後漸次恢復に向う．本馬は管理の都合上38日にて他へ移動を余儀なくされたので観察を中止した．

白血球数は接種前の 6,400 から第3日 8,500 で多少増多をみせてから減少し，第5日には 4,200 と低下し，以後大した変化はなかつたが，第12日より14日にかけて 7,400，7,900，8,200 と増加，その後再び減少し，27日（発熱当日）前日の 4,000 から 6,000 に増加，28日には 6,600 と上昇し，再び減少，第31日以後漸次 6～8,000 に恢復している．

赤血球数は接種日 720 万から漸次下降して行き，第12日に 400 万，第15日には実に 320 万と下降した．翌日 660 万と急に恢復して以後 500 万と 600 万の間を上下した．血色素量は接種日 12.0g/dl が第12日 9.1g/dl，第15日は 8.1g/dl と下降した．第20日は赤血球数 600 万と恢復していたが，血色素量は依然 8.3g/dl，第27日発熱当時は 10.9g/dl と恢復していた．

赤血球沈降速度は第15日，30分，1時間，2時間，24時間でそれぞれ115，129，145，154mm であつたが，第27日熱発時もそれぞれ 111，128，142，153mm であつた。

Fig. 3. Re-transmission of mouse-fixed equine infectious anemia virus (No. 1-strain) to a pony.

考　　察

マウスに固定毒を注射して貧血を起すかどうかは一応試みるべき実験であつたので，とりあえず5匹について固定毒を接種し，同数の健康マウスと対比した．成績では貧血の症状を臨牀的にみとめることができた．殊に接種第3日では体重は対照と全く同じ体重増加を示し，赤血球数も対照と変りないのに血色素量では明かな差を示した．しかも1週後では赤血球数は対照では既に恢復しているのに，又血色素量に変化がないのに病毒接種群では赤血球数も 300 万の減少を示し，血色素量も 13.8g/dl から 9.8g/dl に低下し，遂に11日では 赤血球数 500万台，血色素量 8.7 になつて了つた．マウスでは血液検査のための採血それ自体大きな出血であるから，自然に貧血は起すわけであるが，それにしても対照では一応恢復した時に赤血球 340 万，血色素量4g/dl の減少を来し，推計学的にも危険率１％以下で血色素量の減少は有意であつた．更に11日目にはわずかに２匹に減少したが，はじめより赤血球数 400 万，血色素 5.1 g/dl 減少し貧血の度は強くなつた．

念の為臓器就中肝臓及び脾臓の病理組織学的所見を検する目的と飼料によるウイルス耐性の効果を検する目的で固定毒接種後10日目20日目とで採血及び解剖して調べた所見でも同じく対照は体重，血球数，血色素量10日で変化なく，20日ではむしろ増加を示しているのに，固定毒接種群は何れも減少を示す．クロレラ群は普通飼料群に比し多少とも減少の度が少かつたのは栄養素によるウイルス耐性の影響を示唆する．臓器病理所見は宮崎教授の急逝により不可能となつたため後日再び検討したい。たゞこれが一般に貧血を起さぬ病毒を対照として検査することが必要であり，病理組織学的検査も行うことが望ましいと思うので，今後更にこの点については討究したい．

馬への復元試験については接種12日目頃より横臥が眼立ち，赤血球数がはじめ 7～800

万程度あつたものが500万となり，血色素量も 72g から57g と下つた．しかも日を逐つて赤血球数はますます減少し，第15日には330万となり，血色素量8.2g/dl，赤血球沈降速度も30分 115mm と速められ，心音に雑音をみるに至つた．食欲も衰え干草も食べなくなつた．第17日には体温も39.7°Cと上昇した．接種前は38.0°C〜38.2°C程度であつたから，これは相当な上昇であろう．唯赤血球数は16日よりやや恢復しているが，それでも第20日血色素量は 8.3g/dl しかない．反之第27日には発熱39.6°Cに及び赤血球の沈降速度も第17日の時のそれに匹敵し，赤血球数 630 万であつたが，血色素量は 10.9g/dl と多少恢復していたところをみると，これは貧血とは特に関係はないと思はれる．

復元試験で静脈内濃縮液 110cc，皮下に濃縮しない液 200cc を注射したことは，一般にウイルス性疾患ではそのウイルスが他の動物に馴化し難いのに馴化を果し得た場合は原動物に対する病原性を著しく低下させる（例へば痘瘡，狂犬病）故，できるだけ大量を注射すれば症状を発現せしめうるのではないかという考えからである．

Dreguss 及び Lombard はマウスに通過第5代の肺及び脾臓の材料 2cc を健康馬の静脈内に接種した処，接種前 99.5〜100.50F（37.5°C〜38.1°C）ありし体温が第6日 101.2F（38.4°C）であつたが，52日目に伝貧馬血清を5cc 注射したら定型的発症をし，後慢性型に移行したという．

又マウス3代通過の肝，脾，腎臓材料を 4cc 注射したが，熱発すら起さなかつたという．之を毒血で攻撃したら遅発性の発症をし，42日目に死亡した．しかしマウスに病毒が多少ともあつたことはマウス材料を注射してからの血清のアルブミン-グロブリン比 A/G が接種から接種22日目に 0.61 から 0.35 に下つている．又次の馬で発熱しなかつたといつて不顕性感染を除外し得ない．それは新しい宿主に馴化するとこの病毒は馬に対する著しい毒性を失うことが考えられるとしている．この際彼は“貧血”の症状については何等記載していない．彼の考を肯定するには著者等の如く当然大量接種を行うべきであつた．この点について著者等は彼等の実験に一歩をすすめているといえよう．しかし彼は復元接種した馬には患馬血清を注射後発熱させ，その血液を健康馬に注射した．この馬の発熱時の血液材料には多少マウスに馴れた病毒も混つている筈だからマウスに馴化し易いという考えで，之をマウスに9日間隔で腹腔内及び経鼻感染継代した．その5代目のマウスの肝臓及び脾臓材料の4ccを馬の静脈内に注射したら，18日及び19日目に熱発があり，25及び34日目に再び発熱，赤血球も100万強ほどの一時的減少がみられたという．又この馬の接種8日目のクエン酸血 3cc を馬に注射したところ，接種4及び5日に軽い発熱があつたという．この馬から注射10日目に採血した血清を2頭の馬に 5cc づつ静脈内に注射したところ，発熱，貧血及び病理組織標本で貧血を起したという．即ち最初の復元試験は何ともいえない成績であつたが，この馬を毒血で攻撃発熱した血清でマウス通過をやり，その材料を更に馬に復元し，その発熱後の血液を2頭の馬に接種して伝貧症状をたしかめ得たという．これが真であれば馴化病毒が病原性をとり戻したということになり，一般の定則からははずれる．恐らくこの程度の通過ではまだウイルスの馴化は行われていなかつたとみるべきであろう．馴化ウイルス病毒ならば大量接種で比較的軽微な病症に終り，更にこの発熱時の血清をマウスに接種すればマウスは容易に罹患する筈で，われわれもこれを試むべきであつたと思う．機を得て再検したい．

又孵化鶏卵培養 7〜11 代即ち漿尿膜，卵黄嚢，尿液それぞれの通過方法で培養したものを一緒にした材料を 10cc 皮下に馬に接種した．48日間の観察期間中一度も著しい発熱はなかつた．有毒血をこの日に注射したところ，13日目に 40.6°C の発熱を以て定型的発症をした．しかし鶏卵材料接種6日目に約100万の赤血球減少をみた．又20日目に接種前に比し同じく180万の減少があつたという．血色素量は 12.8g/dl から 10.4g/dl（第8日）及び 10.6g/dl（第31日）になつた．自然毒の攻撃接種でもそれぞれ230万及び 3g の減少が5日の間にみられたが，免疫の完全成立は認められなかつた．しかも孵化鶏卵接種でも病毒は含有されていることは接種馬の血液の変化から強い暗

示をうけると述べている.

又予備実験で6代及び8代通過材料の混合を 5cc 静脈内注射したところ，接種13日に軽い発熱があり，35から41日にも同様にあり，その後の4カ月にも3～5日の発作が繰返しあつた．14日目に赤血球数は170万，血色素量は 2.9g 減つたし白血球数は低い正常値乃至減少症を示した．これは定型的伝貧にみられる像であるという．1cc の毒血静脈内注射で通常より軽い発症であつた．上記2頭の接種前の血清を一緒に健康馬に注射しても異状はなかつた．つまり孵化鶏卵培養では暗示的な結果を得たに止まり，吾人の成績のような判きりした貧血はみとめなかつた.

これは馴化毒が馬に対し弱毒化することを指摘し乍ら，注射した量があまりにも少量にすぎたためであつたことは吾人の成績から首肯されると思う。

結　　　論

伝貧マウス固定毒はマウスに貧血症状を起させる．又同固定毒の大量を仔馬に還元接種すれば貧血症状を起させうる.

本研究は北海道の伝貧研究費の援助をうけた．又諏訪忠兵衛氏は貴重な仔馬を一頭，田宮博教授はクロレラを寄贈された．ここに謹んで謝意を表すると共に北海道知事田中敏文氏，総務部長金丸三郎氏，農務部長福岡武二氏その他関係各位の御厚意を深謝する．又仔馬実験に際しては当時本所御在職中の本学名誉教授故細谷省吾博士の御激励と御便宜を忝うした．御生前の同教授の御懇情を衷心より感謝する．尚恩師矢追秀武教授からは常に御激励を頂いたことを深謝する

文　　　献

1) 荒川清二，兼子千秋，関富雄，武藤進，生体の科学，4，47，1952.；北海道伝貧報告Ⅱ，90,1958.
2) Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T. und Muto, S., Wien. tierärztl. Mschr., 40, 321, 1953.
3) 荒川清二，兼子千秋，関富雄，武藤進，日本獣医学会雑誌，16巻，学会号，173，1954.；北海道伝貧報告Ⅲ，17,1958.
4) Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T. und Muto, S., Yokohama Med. Bull. 8, 48, 1957.
5) 荒川清二，武藤進，村岡恒彦，関富雄，日本獣医学会雑誌，17巻，学会号，18，1955.
6) Dreguss, M. N. and Lombard, L. S., Experimental Studies in Equine Infectious Anemia, University of Pennsylvania Press, Philadelphia, 1954.

Experimental studies on equine infectious anemia (EIA) IV. Alteration of blood in mouse inoculated with the mouse-fixed equine infectious anemia virus and re-transmission test of the virus to a pony

By

Seiji Arakawa, Susumu Muto, Tsunehiko Muraoka, Noboru Tsurumi,
Tiaki Kaneko, and Tomio Seki

The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo

Adult mice weighing about 18 gm inoculated intraperitoneally with 0.5 cc of 10% saline suspension of mouse-brain infected with mouse-fixed equine infectious anemia virus. The mice inoculated with the virus showed remarkable decrease in number of red blood corpuscles and hemoglobin content while that of the control mice remained almost unchanged.

A pony was inoculated subcutaneously with 100 cc of suspension of the fixed virus cultured in fertile hen's chorioallantoic membrane concentrated 100 times (LD_{50}: $10^{-6.3}$) and subcutaneously with 200 cc of original suspension (LD_{50}: 10^{-5}). Fever attack with cardiac murmur, marked decrease in red blood corpuscles and hemoglobin content, leukopenia, lateration of mucosus membrans etc. appeared at 17 days after virus inoculation.

馬伝染性貧血（伝貧）に関する実験的研究
第5報　マウス固定伝貧病毒を抗原とする患馬血清その他の補体結合反応（CFT）及び沈降反応（PT）について

東京大学伝染病研究所

荒川清二，兼子千秋，武藤　進，鶴見　登，村上勝俊，関　富雄

Hempel（1909）[1] は患馬骨髄の抽出物を抗原として，伝貧馬血清のＣＦＴを試み，この反応は伝貧の診断には価値がないことを報じた．Wirth（1918）[2] もＣＦＴについて見るべき成果を得ていない．然るにLührs（1921）[3] は少数の患馬の腎，脾及び肝臓からの抽出抗原は発熱中に採血した血清には陽性で，無熱時の血清では陰性であるという．Zeller（1924）[4] も同様な結果を得たが，無熱時の血清ではよい抗原を使用しても極少数陽性に出るだけであるとした．Mohler（1936）[5] は患馬の脾臓蒸溜水抽出物を抗原として陽性のものがあることを報じた．しかし採血の時期によつて陽性陰性が定かならず，又はつきりした実験的伝貧で陽性に出なかつたという．Traub 等（1941）[6] は伝貧材料で超免疫した馬は脾臓抽出抗原で陽性であつたが，野外の成績では25頭中１頭のみが陽性に出過ぎないという．並河（1943）[7] は血清材料をそのまま又は電気泳動抗原を用いたが，実用上みるべき成果を得ていない．Dreguss 及び Lombard（1954）[8] は患馬の肝，腎，脾，肺，溶血々球等を抗原として行つたが，陽性度が不規則で一貫性がなく，かつ実用上余りに力価が低いとした．又急性期の血清を抗原とした場合も健康馬が陽性となり失敗した．然るに Altara 等（1952）[9] は患馬の脾臓アルコール抽出物を抗原とした補体結合反応を行い良果を得，爾来各国学者の追試をうけた．本抗原は市川等（1956）[10][11] によると脂質によるものであつて，ウイルスが含まれないことを示唆した．Ulbrich（1956）[12] によると本抗原は非特異的で健康馬の脾抽出抗原と等価でカルジオライピンに一番近いという．

沈降反応については臨時馬疫調査委員会（1914）[13]，Lührs（1921）[3] 並河（1943）[7]，槇村（1943）[14] 等の試験があるが，みるべき成果を得ず，Dreguss 及び Lombard[8] も初発熱等の血清を抗原として患馬血清につき行つたが，判然たる結果を得られなかつた．根岸等（1955）[9] は伝貧馬臓器より得た燐脂質抗原による沈降反応が有望であるという．

荒川等（1952，1953）[16] は伝貧病毒がマウス脳又は孵化鶏卵に分離できること，本病毒を抗原として患馬血清が特異的ＣＦＴを起すことを報じた．蓮見（1955）[17] は患馬より得た自然病毒を抗原としてＣＦＴを行い陽性の成績を得ている．

しかし上記荒川等が試みる迄は多くは病毒そのものを抗原とせず，従つて陽性度は高くても非特異的であるか，患馬を材料とする為に常に容易に一定の抗原をつくることがむずかしかつた．病毒その物を抗原とする意図はあつても病毒その物の確認については必ずしも明かならず，まして力価乃至抗原価の決定など及びもつかなかつた．荒川等はこの点に鑑み1954以来マウス固定毒又は孵化鶏卵通過病毒を抗原とするＣＦＴ又はＰＴを引つづき行い，実際の診断にも利用しうることをみとめ得たので報告する．

実験材料及び方法

ＣＦＴの術式は第１報に記した如くで，Kolmer 法の変法で所謂アメリカ陸軍軍医学校法により，補体は２充単位，抗原は４単位，溶血素は 3ＭＨＤを用いた．

血清の非働化は 60°C 20分水浴によつた．標準血清はマウス脳を抗原とする時は漿尿膜材料，漿尿膜抗原を用いる時にはマウス脳材料を以て正常モルモット（体重 500g）の脳内に 0.15cc 注射し，3週間後採血したものである．抗原は罹患マウス脳又は罹患孵化鶏卵漿尿膜を10%の割に0.85%食塩水（pH 7.6）で乳剤にし，之を5回凍結融解し，5,000r.p.m.，60分遠心した上清である．上清には 56°C 20分加温した正常モルモット血清を2%の割に加えた．対照の正常抗原には罹患しない健康なマウス脳又は孵化鶏卵漿尿膜を同様に調製したものを用いた．

判定は 100，75，50，25% 溶血阻止をそれぞれ 4，3，2，1 で示し，それより多少強いか弱い溶血度は右肩にそれぞれ＋か－をしるした．溶血阻止 50% 以上を陽性と判定した．血清及び抗原対照が些かでも抗補体作用を示したものは成績から除外した．

沈降反応には径 1cm 長さ 12cm の小試験管に 1cc の倍数稀釈された各血清を入れ，1% のアラビアゴム溶液の 0.5cc を重層させてから 1cc の抗原を重層させた．抗原はCFTのものと同じである．反応陽性の時にはアラビアゴム層に白輪が生ずる．

馬接種材料には家畜衛生試験場より分与された New Hampshire 株を健康馬に接種し，その発作時血清である．接種馬は当歳馬で予め血液及び肝臓穿刺材料検査で伝貧所見なきものを用いた．

豪州馬血清は横浜税関繋留中のものから採血されたもので，入江所長の御厚意による．フランス馬血清は G. Ramon 教授の御厚意により Alfort の仏国農務省 Laboratoire central de recherches vétérinaires 所長 J. Verge 教授より荒川へ宛送附されたもので，健康馬より得られたもの，患馬血清は一頭より得た2種（A，B）の血清である．

カルジオライピンは住友化学工業 K.K. 製のガラス板法抗原を用いその定性法によつた．対照に用いた人梅毒患者血清は予研村田良介博士の御厚意による．

実験成績

1. 接種罹患馬のCFT成績

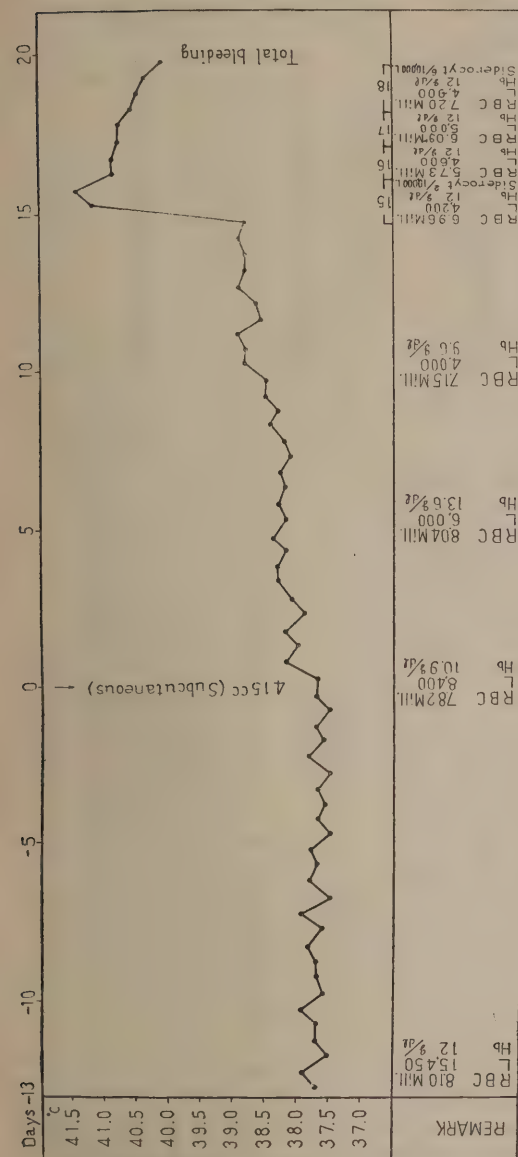
New Hampshire 株接種発作時の馬血清 415cc を皮下に接種した健康当才馬の熱型及び血液所見は第1図の如くで，CFTは接種前，接種 6，10，15，18日目と検査した．接種した午後より多少（37.8°C→38.1°C）の上昇を示し，この 38°C 台が1週間ほど続いたが接種10日後に更に 0.5°C

Table 1.

Complement fixation test of pony serum inoculated with native virus.

Day of bleeding	SC 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	AC 1:4	〃 1:4	〃 1:8	〃 1:16
BI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 days AI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18 〃	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
20 〃	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal horse	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Antiserum	0	4	4	2	0	0	0	0	0	0

BI: Before inoculation of virus
AI: After inoculation of virus
SC: Serum control
AC: Antigen control

Fig. 1.
Inoculation test of native virus to a pony.
Curve of temperature.

Note:
R B C : Red blood cells
L : Leukocytes
Hb : Hemoglobin content
Siderocy. : Siderocytes

内外上昇，接種15日に突然熱発作(41.2→41.4°C)を起した．接種15日後及び18日後は担鉄細胞それぞれ白血球10,000視野中２箇及び６箇出現，接種20日目に全採血した．肝及び脾臓には特別の変化をみとめなかつた．血液所見は接種前赤血球 782万，白血球 8,400 及び血色素量 10.9 g/dl 以下それぞれ６日後は 814万，6,000 及び 13.6 g/dl，10日後 715 万，4,000 及び 9.6 g/dl，15日後 696万，4,200 及び 12 g/dl，16日後 573 万，4.600 及び 12 g/dl，17日後 609 万，5,000，12 g/dl，18日後 720万，4,900，12 g/dl であつた．赤血球沈降速度は接種前 10 分 20 mm，30分 117 mm ありしものが，接種15日後では10分 125 mm，30分 135 mm，18日後では10分で 90 mm，30分 142 mm，となつている．即ち貧血所見はさほど強くなかつたが，「血沈」は促進されていた程度である．しかしＣＦＴ所見は第１表に示すように接種15日より陽性1:4 となつた（第１表，第１図）．

2. 豪州輸入馬血清のＣＦＴ

豪州より輸入されて税関繋留中の血清を横浜税関入江所長の御厚意で頂戴したものについてみると第２表の如くで1954では No. 1—No. 30 中 No. 18 が 1:4 で 1⁻ 度の溶血阻止をみたのみで全く陰性であつた．又 1955—6 では No. 1—No. 20 の 20 頭あり，このうち No. 4，No. 10，No. 13，No. 15，No. 19 に 25% 内外の溶血阻止を血清対照乃至抗原対照にみとめ，即ち多少の抗補体作用を被検血清にみとめた他は全部陰性であつた．（第２表）．

3. 1956芝浦屠殺場に伝貧馬として送られた馬の屠殺処分時の血清のＣＦＴと肝臓病理組織所見との対比．

ＣＦＴの成績は第３表の如くで屠殺日の初期即ち一斉検査の行はれはじめた頃の馬は 100% 陽性であつたが，以後漸減の傾向を辿つている．即ち７月５日採血の分10頭中10頭，９月８日の分13頭中13頭，９月10日の分９頭中８頭（89%），9月19日の分７頭中６頭（86%），９月21日の分２頭中1頭（50%），９月22日の分7頭中4頭（56%）陽性，９月28日の分２頭中２頭共陰性（0%），10月３日の分６頭中２頭，10月４日の分７頭中５頭(71%）陽性，10月12日６頭中６頭共陰性，全体として68頭のうち ＣＦＴ 陽性49，陰性判定不能１頭で陽

Table 2.

Complement fixation test between imported horses sera and mouse-fixed virus antigen.

A) 1954.

No. of horse	Dilution of serum AC	1 : 4	1 : 8	1 : 16	SC	No .of horse	Dilution of serum AC	1 : 4	1 : 8	1 : 16	SC
1	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	18	0	1−	0	0	0
4	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	21	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	22	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	26	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	29	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0

B) 1955.

No. of horse	AC 1 : 4	Dilution of serum 1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	SC 1 : 4
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	1 −	1 +	0	0	0	1 +
5	0	1 +	1 +	1	1	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	1 +	1 −	0	0	0
9	0	1 −	0	0	0	0
10	1	1	0	0	0	1 −
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	0	1	0	0	0	1 +
14	0	0	0	0	0	0
15	1 −	1 −	0	0	0	1 −
16	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0
19	0	1	0	0	0	1 +
20	0	0	0	0	0	0
I G P	0	4	4	4	3	0

I G P : Immunized guinea pig.
A C : Antigen control
S C : Serum control.

Table 3.

Complement fixation test with mouse-fixed virus antigen and serum of horses which were diagnosed as E I A by regular examination (1956).

(A) (1)

Day of bleeding	No. of horse	Dilution of serum					
		AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	SC 1 : 4
July 5, 1956		0	4	3	1	0	0
	66	0	4	4	2	0	0
	67	0	2	1	0	0	0
	68	0	4	3	2	0	0
	69	0	4	4	4	0	0
	81	0	4	0	0	0	0
	82	0	4	4	4	3 −	0
	84	0	4	4	4	3	0
	86	0	3	4	0	0	0
	88	0	4	4	1 +	0	0
	I G P	0	4	4	4	4	0
	I − 1	0	0	0	0	0	0
Sept. 8, 1956	311	0	4	3	2	0	0
	310	0	4	2	2	2	0
	309	0	4	3	2	0	0
	308	0	4	4	4	0	0
	307	0	2	0	0	0	0
	306	0	4	4	3	3	0
	305	0	2	2	2	2	0
	304	0	2	2	1	1	0
	303	0	3	2	1	1	0
	218	0	2	2	1	1	0
	217	0	3	1	2	0	0
	216	0	4	3	2	2	0
	215	0	2	1	2	4	0
	I − 2	0	0	0	0	0	0
	I − 3	0	0	0	0	0	0
Sept. 10, 1956	304	0	4	3	0	0	0
	305	0	2	0	0	0	0
	306	0	2	0	0	0	0

Day of bleeding	No. of horse	Dilution of serum					
		AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	SC 1 : 4
	307	0	4	2	0	0	0
	308	0	4	2	0	0	0
	309	0	4	3	1	0	0
	310	0	4	4	1	0	0
	311	0	4	4	2	0	0
	312	0	0	0	0	0	0
Sept. 17, 1956	327	0	2	1	0	0	0
	324	0	4	4	2	1	0
	245	0	4	2	0	0	0
	247	0	4	4	2	0	0
Sept. 21, 1956	302	0	0	0	0	0	0
	303	0	2	1	0	0	0
Sept. 22, 1956	261	0	4	4	4	0	0
	262	0	4	4	2	0	0
	263	0	0	0	0	0	0
	264	0	3	1	1	0	0
	265	0	4	4	4	4	0
	266	0	0	0	0	0	0
	267	0	0	0	0	0	0
Sept. 17, 1956	326	0	4	3	0	0	0
	247	0	4	1	0	0	0
	315	0	0	0	0	0	0
Sept. 28, 1956	189	2	0	0	0	0	0
	188	0	0	0	0	0	0
	I－5	0	0	0	0	0	0
	I－6	0	0	0	0	0	0
Oct. 3, 1956	312	0	0	0	0	0	0
	314	0	0	0	0	0	0
	346	0	0	0	0	0	0
	313	0	0	0	0	0	0
	306	2	4	4	2	0	0
	348	0	4	0	0	2	0

Day of bleeding	No. of horse	Dilution of serum					
		AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	SC 1 : 4
Oct. 3, 1956	X333	0	0	0	0	0	0
	X321	0	4	0	0	0	0
	340	0	0	0	0	0	0
Oct. 4, 1956	298	0	4	4	2	2	0
	301	0	0	0	0	0	0
	299	0	2	0	0	0	0
	297	0	4	2	0	0	0
	296	0	0	0	0	0	0
	300	0	4	2	2	2	0
	295	0	4	4	2	1	0
Oct. 12, 1956	305	0	1	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0
	302	0	1	0	0	0	0
	301	0	0	0	0	0	0
	325	0	0	0	0	0	0
	304	0	1	0	0	0	0

Notes: AC : Antigen control
SC : Serum control
I : Imported horse
IGP : Immune guinea pig
X : Other diseases

Table 3.
(B) Summarized list (1956).

Day of bleeding	Positive	Negative	Dubious	Total	% (Positive)
July 5	10	0	0	10	100
Sept. 8	13	0	0	13	100
〃 10	8	1	0	9	89
〃 17	6	1	0	7	86
〃 27	1	1	0	2	50
〃 22	4	3	0	7	56
〃 28	0	2	0	2	0
Oct. 3	2	3	1	5	33
〃 4	5	2	0	7	71
〃 12	0	6	0	6	0
Total	49	19	1	69	72

性は 72% であつた．このうち東大医学部病理学教室大津助教授の御厚意によつて検鏡された肝臓の病理所見は31頭中肝臓鉄反応．ＣＦＴ共に陽性は８頭のみで鉄反応陰性ＣＦＴ陽性は11例，鉄反応陽性ＣＦＴ陰性は７例，鉄反応．ＣＦＴ共に陰性は５例あり（第４表，第５表A)．即ち殺処分をうけた 16% のうちには伝貧にあらずして殺されたものがあることを示唆している．

各標本について略記すると下記の如くであつて，表示すると第４表の如くなる．

Table 4.
Pathological change in liver and CFT-titer of horses diagnosted as EIA by regular examination (1956).

No. of preparation	No. of horse	Fe-reaction	Infiltration (Leukocytes)	Reaction of Kupfer-cells	Prejudice of liver-cells	Titer of CFT	No. of preparation	No. of horse	Fe-reaction	Infiltration (Leukocytes)	Reaction of Kupfer-cells	Prejudice of liver-cells	Titer of CFT
1	327	±	+			64×	17	312	±			++	−
2	266	+	+++	+++		−	18	295	−	+～++	>++		16×
3	346	+	+	++		−	19	297	++	+++	++	+	8×
4	66	+	++			8×	20	296	−	+	+	+	−
5	307	−	+	+		8×	21	298	−	+	++		32×
6	84	+	+	+		32×	22	265	+	+	+		32×
7	81	−	+			4×	23	262	+++	+	+++		16×
8	261	−	++			16×	24	264	+++	+	++		4×
9	348	−	+++	+++	+	32×	25	263	−	+	+～++	+	−
10	267	−	+	+++	++	−	26	340	+	++	++		−
11	313	+	+	+++	±	−	27	324	−				16×
12	300	+	+	+		−	28	302	−	+	+		−
13	299	−	+	++	+	4×	29	308	++～+++	+	++～+++	+	8×
14	304	−	++	++		8×	30	306	−	+	+	++	32×
15	301	+～++	+	+		−	31	305	+～++	+	++	±	32×
16	188	+	++～+++	+++		−							

但し H：ヘマトキシリンエオジン染色，Fe：鉄染色．No. の次の数字は馬の番号を示す．

No. 1. 327, CFT: 1:64,

H: 白血球が多少グリソン氏鞘，小葉の中に浸潤しているが軽度．

Fe: クッパー氏（以下ク氏）星細胞に僅かにあるかも知れぬが，染色等の手技により確実なことは云えない．

No. 2. 266, CFT: −

H: 前記の変化が著明．所々にク氏星細胞の増強によると思はれる肉芽腫が小葉の中に散在している．

Fe: ク氏星細胞に著明（No. 1 より著しい)．

No. 3. 346, CFT: −

H: ク氏星細胞に瀰漫性の増殖がある。肉芽腫は余り作つていない．白血球等の浸潤は著明でない．ク氏星細胞に褐色の色素をとつているものが目立つ．

Fe: それ程著明でない．ク氏星細胞にたまつており，肝細胞には小さな顆粒がある．

No. 4. 66, CFT: 1:8

H: 白血球の浸潤が目立つ程度（瀰漫性）.

Fe: ク氏星細胞に弱い鉄反応があるが強くない. 僅少.

No. 5. 307, CFT: 1:8

H: ク氏星細胞の反応軽度, 白血球浸潤軽度.

Fe: Fe −.

No. 6. 84, CFT: 1:32

H: 多少ク氏星細胞の反応（増殖, 浸潤等）と白血球の浸潤もあるが強くない.

Fe: ク氏星細胞に僅かに比較的軽い鉄反応がある. 肝細胞にはない.

No. 7. 81, CFT 1:4

H: No. 6 と殆んど同程度.

Fe: 殆んど陰性.

No. 8. 261, CFT: 1:16.

H: ク氏星細胞浸潤やや著明, 肉変腫が少しある.

Fe: 陰性.

No. 9. 347, CFT: 1:16.

H: ク氏星細胞の反応と白血球の浸潤が目立つ. 所々に浸潤, 増殖したりした細胞の集りがあるが, 肉芽腫という程ではない. 肝細胞には多少障碍がある.

Fe: (−)

No. 10. 267, CFT: −

H: 肝細胞に解離が認められ, これが所々かなり強い変性をしている. ク氏星細胞の反応が強い. 白血球の浸潤は多少陽性, 実質の障碍が見られる（漿液性伝染性肝炎に似ている）

Fe: (−)

No. 11. 313, CFT: −

H: ク氏星細胞に増殖, 膨化が著明, 細胞に, 黒褐色の色素が含まれている. 白血球が散在している. 肝細胞の障碍は少い.

Fe: 黒褐色の色素に鉄反応は陰性, （この他反応のある細胞があるが数は多くない）.

No. 12. 300, CFT: −

H: 核が殆ど染まつて居らぬ.（除外した方がよい.）

Fe: ク氏星細胞に鉄反応をとるものが多いが, 増殖その他の程度は軽い.

No. 13. 299, CFT 1:4

H: ク氏星細胞の反応はかなりの程度にあり. 白血球の浸潤もある. 肝細胞が多少小葉の周辺部のものが強く染まる傾向があり. 障碍をうけている.

Fe: 陰性.

No. 14. 304, CFT: 1:8

H: ク氏星細胞の反応と細胞浸潤は或る程度陽性. 肝細胞は余り変化がなく中等度.

Fe: 陰性.

No. 15. 301, CFT: −

H: 軽度の反応.

Fe: ク氏星細胞に軽〜中等度にある.

No. 16. 188, CFT: −

H: ク氏星細胞の反応著明, 浸潤細胞が著明. 白血球の浸潤中等度〜高度. 肉芽腫の初まりのもの少し見られる.

Fe: 極く軽度.

No. 17. 312, CFT: −

H: 肝細胞の変化は中等度. 所々に肉芽腫式の変化が目立つ.

Fe: ク氏星細胞に僅かにあるかもしれないが適確ではない.

No. 18. 295, CFT: 1:16

H: 全般的に漿液性浮腫の変化が著明. ク氏星細胞の反応中等度以上. 細胞浸潤軽乃至中等度.

Fe: −.

No. 19. 297, CFT: 1:8

H: 細胞浸潤が瀰浸性に高度にある. ク氏星細胞の反応もかなり強い. 肝細胞には強い壊死はない.

Fe: 卄, pH 2. に集合して鉄反応のあるものがあるが肝細胞にはない.

No. 20. 296, CFT: −

H: 肝臓がばらばらになつており, 空胞がある. 細胞浸潤は軽度, ク氏星細胞の反応軽度.

Fe: −.

No. 21. 298 , CFT: 1:32

H: ク氏星細胞の反応は強い. 細胞浸潤は軽い. 漿液性浸潤目立つ.

Fe: −.

No. 22. 265, CFT: 1:32

H: 軽度.

Fe: ク氏星細胞に軽度

No. 23. 262, CFT: 1:16

H: ク氏星細胞の反応強, 細胞浸潤軽し.

Fe: ク氏星細胞が増え, かなり著明 (卅). 肝細胞には極く小さな顆粒がある.

No. 2 4. 264, CFT: 1:4

H: ク氏星細胞が瀰漫性に増殖し, 褐色の色素が附着. 細胞浸潤割合に少い.

Fə: 褐色の色素に鉄反応が著明. 肝細胞の中にも小顆粒状に少しある.

No. 25. 263, CFT: −

H: ク氏星細胞軽〜中等度. 細胞浸潤は軽度. 肝細胞は明く, 空胞のように見える.

No. 26. 340, CFT: −

H: ク氏星細胞の反応細胞浸潤は中等度. 浸潤細胞が小さな病巣を作つている.

Fe: ク氏星細胞に軽度

No. 27. 324, CFT: 1:16

Fe: 確実な鉄反応なし.

No. 28. 302, CFT: −

H: ク氏星細胞の反応軽. 細胞浸潤軽.

Fe: −.

No. 29. 308, CFT: 1:8

H: ク氏星細胞の反応は中等度〜高度. 黒褐色の色素をもつ. 肝細胞の障碍がある程度あり. 細胞浸潤割合に少い.

Fe: 褐色の色素は大体反応がかなり著明. 中等〜高度. 肝細胞には余りない.

No. 30. 306, CFT: 1:32

H: ク氏星細胞反応軽度, 白血球浸潤軽度.

Fe: −.

No. 31. 305, CFT: 1:32

H: ク氏星細胞の反応中等度. 細胞浸潤は余り強くない. 肝障碍も多少あると思はれる.

Fe: ヮ氏星細胞に軽度. 所により中等度.

Table 5.

Fe-reaction in liver and CFT of horses diagnosted by regular examination as EIA.

A. 1956.

Fe-r.	+	8
C F	+	
Fe-r.	−	11
C F	+	
Fe-r.	+	7
C F	−	
Fe-r.	−	5
C F	−	
計		31

Infilt.	+	18
C F	+	
Infilt.	− ?	2
C F	+	
Infilt.	+	11
C F	−	
Infilt.	−	0
C F	−	
計		31

B. 1957.

Fe-r.	+	18
C F	+	
Fe-r.	−	10
C F	+	
Fe-r.	+	3
C F	−	
Fe-r.	−	9
C F	−	
計		40

Infilt.	+	21
C F	+	
Infilt.	−	10
C F	+	
Infilt.	−	3
C F	+	
Infilt.	−	0
C F	−	
計		34

Note: Fe-r.: Fe-reaction. Infilt.: Infiltration.

4. 1957芝浦屠殺場に伝貧馬として送られた馬の屠殺処分時の血清のＣＦＴと肝臓病理組織所見との対比.

1957では第５表Ｂ及び第６表，第７表の如くで検討した194頭中血清の抗補体作用による判定不能の分をのぞいた164頭中陽性126頭（76.82％）であつた．即ち陽性は６月13日分12頭中７頭，同月16日分31頭中25頭陽性，同月19日分13頭全部，同月21日分23頭中21頭，同月24日分23頭中10頭，同月27日分23頭中19頭，７月１日分25頭中21頭，同月10日14頭中10頭陽性で，1956の如く検査末期の分を調べなかつたためか本回は前回より陽性率は向上した．病理組織所見との関係は第５表Ｂ第７表の如くで40頭の検査馬中肝臓の鉄反応，ＣＦＴ共に陽性18，ＣＦＴのみ陽性10，肝臓の鉄反応のみ

Table 6.

Complement fixation test with mouse-fixed virus antigen and serum of horses which were diagnosted as E I A by regular examination (1957).

(A) (1)

Day of bleeding	No. of horse	AC 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	SC 1:4
June 13, 1957	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	2	1	0	0	0	0
	3	0	1	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	4	4	2	1	0	0
	6	0	4	4	3	2	1	0
	7	0	3	1	0	0	0	0
	8	0	2	0	0	0	0	0
	9	0	4	2	0	0	0	0
	11	0	1	0	0	0	0	0
	12	0	2	0	0	0	0	0
	13	0	0	0	0	0	0	0

(A) (2)

Day of bleeding	No. of horse	AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	SC 1 : 4
June 16, 1957	14	0	4	2	0	0	0	0
	15	0	4	4	2	0	0	0
	16	0	4	2	0	0	0	0
	17	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	4	1	1	0	0	0
	19	0	3	2	0	0	0	0
	20	0	4	4	2	0	0	0
	21	0	0	0	0	0	0	0
	22	0	4	2	0	0	0	0
	23	0	0	0	0	0	0	0
	24	0	4	3	0	0	0	0
	26	0	4	4	2	1	0	0
	27	0	4	4	3	0	0	0
	28	0	2	1	0	0	0	0
	29	0	4	4	2	0	0	0
	30	0	4	3	1	1	0	0
	32	0	4	3	0	0	0	0
	33	0	4	3	2	1	0	0
	34	0	2	1	0	0	0	0
	35	0	2	1	0	0	0	0
	36	0	3	2	0	0	0	0
	37	0	4	4	2	0	0	0
	38	0	0	0	0	0	0	0
	39	0	4	3	0	0	0	0
	41	0	1	0	0	0	0	0
	42	0	4	4	0	0	0	0
	43	0	4	1	0	0	0	0
	44	0	4	3	2	0	0	0
	45	0	4	2	0	0	0	0
	46	0	0	0	0	0	0	0
	47	0	4	4	1	0	0	0

(A) (3)

Day of bleeding	No. of horse	AC 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	SC 1:4	
June 19, 1957	48	0	2	1	0	0	0	0	
	49	0	4	1	0	0	0	0	
	50	0	4	4	2	0	0	0	
	51	2	4	4	4	2	2	0	×
	52	1	4	4	4	2	0	0	×
	53	2	4	4	4	4	3	4	×
	54	1	4	4	3	2	2	0	×
	55	0	4	4	3	2	0	0	
	56	1	4	4	2	2	1	0	×
	57	0	4	4	4	2	0	0	
	58	0	4	4	2	1	0	0	
	59	2	4	3	1	0	0	0	×
	60	0	4	4	4	4	1	0	
	61	0	4	4	2	2	1	0	
	62	0	4	4	4	2	1	0	
	63	0	4	4	2	1	0	0	
	64	0	4	4	2	1	0	0	
	65	0	4	4	2	0	0	0	
June 12, 1957	67	0	4	4	3	2	2	0	
	69	0	4	4	2	1	0	0	
	70	0	4	4	4	1	0	0	
	71	0	4	4	2	1	0	0	
	72	0	4	4	2	2	0	0	
	73	0	4	4	2	1	1	0	
	74	0	4	4	1	0	0	0	
	75	0	4	4	2	0	0	0	
	76	0	4	4	2	0	0	0	
	77	4	4	4	4	2	0	0	×
	78	1	4	2	1	0	0	0	×
	79	0	4	4	4	4	1	0	
	80	0	4	4	4	4	1	0	
	81	0	4	4	4	3	1	0	
	82	0	4	4	3	0	0	0	

(A) (4)

Day of bleeding	No. of horse	AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	SC 1 : 4	
June 21, 1957	83	0	4	4	2	2	0	0	
	84	3	4	4	4	4	4	3	×
	85	0	4	4	2	2	0	0	
	86	2	4	4	4	4	1	0	×
	87	0	0	0	0	0	0	0	
	89	0	4	4	2	0	0	0	
	91	2	4	4	4	3	3	0	×
	92	0	2	1	0	0	0	0	
	93	0	4	4	4	4	1	0	
	94	0	4	4	2	1	0	0	
	95	0	4	4	4	4	2	0	
	96	0	4	4	1	0	0	0	
	97	2	4	4	3	2	1	0	×
	98	0	0	0	0	0	0	0	
June 24, 1957	99	0	0	0	0	0	0	0	
	100	3	4	3	0	0	0	3	×
	101	0	4	2	0	0	0	0	
	102	0	0	0	0	0	0	0	
	104	4	4	4	0	0	0	0	×
	105	0	4	4	3	1	0	0	
	106	0	2	1	0	0	0	0	
	107	0	0	0	0	0	0	0	
	108	0	1	0	0	0	0	0	
	109	0	2	1	0	0	0	0	
	110	0	2	1	0	0	0	0	
	111	0	0	0	0	0	0	0	
	112	0	0	0	0	0	0	0	
	113	1	4	4	2	1	0	0	×
	114	0	0	0	0	0	0	0	
	115	0	0	0	0	0	0	0	
	116	0	0	0	0	0	0	0	
	117	0	0	0	0	0	0	0	
	118	0	0	0	0	0	0	0	

Day of bleeding	No. of horse	AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	SC 1 : 4	
June 24, 1957	119	0	3	0	0	0	0	0	
	120	0	4	0	0	0	0	0	
	121	0	2	1	0	0	0	0	
	122	0	0	0	0	0	0	0	
	123	0	1	0	0	0	0	0	
June 27, 1957	124	0	4	4	4	2	0	0	
	125	0	4	4	2	0	0	0	
	126	0	4	2	0	0	0	0	
	127	0	1	0	0	0	0	0	
	128	0	4	2	0	0	0	0	
	129	4	4	4	0	0	0	4	×
	130	4	4	4	4	3	2	0	×
	131	0	0	0	0	0	0	0	
	132	4	4	4	1	0	0	0	×
	133	4	4	0	0	0	0	0	×
	134	0	0	0	0	0	0	0	
	135	0	4	4	2	2	0	0	
	136	0	3	2	0	0	0	0	
	137	0	4	3	0	0	0	0	
	138	4	4	4	2	0	0	0	
	139	0	4	4	2	0	0	0	
	140	0	4	1	0	0	0	0	
	141	0	4	2	0	0	0	0	
	142	0	4	4	2	0	0	0	
	143	0	4	2	0	0	0	0	
	144	0	2	0	0	0	0	0	
	145	0	4	4	4	2	0	0	
	146	0	0	0	0	0	0	0	
	147	0	4	2	0	0	0	0	
	148	0	1	0	0	0	0	0	
	149	0	4	2	0	0	0	0	
	150	0	4	4	0	0	0	0	
	151	0	4	3	3	0	0	0	

(A) (6)

Day of bleeding	No. of horse	AC 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	SC 1:4	
July 27, 1957	152	0	4	2	0	0	0	0	
July 1, 1957	153	0	3	0	0	0	0	0	
	154	0	4	2	0	0	0	0	
	155	3	4	4	4	4	2	0	×
	156	0	0	0	0	0	0	0	
	157	0	4	4	0	0	0	0	
	159	3	4	4	2	0	0	0	×
	160	0	4	4	2	0	0	0	
	161	2	4	2	0	0	0	0	×
	162	0	4	4	2	0	0	0	
	164	0	3	1	0	0	0	0	
	165	0	4	2	0	0	0	0	
	166	2	3	2	0	0	0	0	×
	167	0	4	4	2	0	0	0	
	168	0	4	4	4	2	0	0	
	169	2	4	4	3	1	0	0	×
	170	0	4	3	1	0	0	0	
	171	0	4	4	2	1	0	0	
	172	0	4	4	1	0	0	0	
	173	0	4	4	3	1	0	0	
	174	0	4	3	1	0	0	0	
	175	0	4	4	0	0	0	0	
	176	0	4	4	2	0	0	0	
	177	0	4	4	4	0	0	0	
	178	0	0	0	0	0	0	0	
	179	0	4	4	4	1	0	0	
	180	4	4	4	4	1	0	0	×
	181	0	4	4	0	0	0	0	
	182	0	0	0	0	0	0	0	
	183	0	4	4	4	4	2	0	
	184	0	4	2	0	0	0	0	
	186	0	0	0	0	0	0	0	
July 10, 1957	187	0	4	4	2	0	0	0	

(A)　　　　(7)

Day of bleeding	No. of horse	AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	SC 1 : 4	
July 10, 1957	188	2	4	4	2	0	0	0	×
	189	0	3	2	0	0	0	0	
	190	0	0	0	0	0	0	0	
	191	0	0	0	0	0	0	0	
	192	0	4	2	0	0	0	0	
	193	0	2	0	0	0	0	0	
	194	2	4	4	3	0	0	0	×
	195	0	4	4	2	0	0	0	
	196	0	0	0	0	0	0	0	
	197	3	4	4	3	2	0	0	×
	198	0	4	4	2	0	0	0	
	199	0	4	3	1	0	0	0	
	200	0	4	4	1	0	0	0	
	201	0	4	2	0	0	0	0	
	202	4	4	4	4	2	2	0	×
	203	0	2	0	0	0	0	0	
	204	0	4	4	0	0	0	0	

Table 6.

B. Summarized list (1957).

Day of bleeding	Positive	Negative	Total	% (Positive)	Dubious
June 13	7	5	12	58.3	0
〃 16	25	6	31	86	0
〃 19	13	0	13	100	1
〃 21	21	2	23	91.3	6
〃 24	10	13	23	43.5	2
〃 27	19	4	23	82.6	6
July 1	21	4	25	84	6
July 10	10	4	14	71.4	4
Total	126	38	164	76.8	30

Table 7.

Pathological change in liver and CFT-titer (1957).

No. of preparation	No. of horse	Fe-reaction	Infiltration (Leukocytes)	Reaction of Kupfer-cells	Prejudice of liver-cells	Titer of CFT
1	181	+++	•	•	•	8×
2	16	−	+++	+++	+	8×
3	125	++	++	+++	++	16×
4	182	±	+	+	•	−
5	168	+	+++	+	+	32×
6	148	−	+	+	•	−
7	187	+	•	•	•	16×
8	179	−	+	•	+	−
9	17	−	+++	+++	+++	16×
10	15	−	+++	+	•	16×
11	9	+++	+	++	+	8×
12	160	−	+	+	−	16×
13	7	++	+	+++	+	4×
14	126	+++	+	+	•	8×
15	41	−	+	+	•	−
16	6	±	+	++	•	32×
17	110	+++	+	++	•	6×
18	175	+	+	+	•	8×
19	42	+++	+	+++	•	4×
20	5	++	++	++	+	16×
21	174	+	+++	++	+	−
22	104	−	+++	+++	+	8×
23	182	±	•	•	•	−
24	37	+	•	•	•	16×
25	149	−	−	−	−	8×
26	180	+++	+	++	−	16×
27	134	−	+++	++	+	−
28	28	+++	+	+	+	4×
29	12	+	+	+	•	4×
30	189	+++	•	•	•	8×
31	141	+	•	•	•	8×
32	146	−	+	+	+	8×

No. of preparation	No. of horse	Fe-reaction	Infiltration (Leukocytes)	Reaction of Kupfer-cells	Prejudice of liver-cells	Titer of CFT
33	115	−	+	+	•	−
34	108	++	+	+	•	−
35	145	−	−	−	−	32×
36	183	+++	+	++	+	64×
37	178	+++	+	+	•	−
38	147	±	−	+	−	8×
39	114	±	−	+	−	−
40	182	−	−	−	−	−

陽性3，両反応共陰性9例で40頭中 22.5% は両反応共陰性，従つてこのうちには伝貧馬にあらざるものが入つていることを示唆する．1956の分と一緒にすると71頭中14頭（19.8%）は両反応陰性ということになる．又浸潤とＣＦＴ共に陽性は34頭中21，ＣＦＴのみ陽性同じく10，浸潤のみ陽性3両者共陰性は0であつた．

各標本について略記すると下記の如くである．

No. 1.　181，CFT：　1：8，
H：
Fe：　+++，グリソン氏鞘及び血量中．
No. 2.　16，CFT：　1：8，
H：　リンパ球様細胞の浸潤つよく血管中にもそれを見る．ク氏星細胞も増加し，それがリンパ球様細胞と共に結節状になつている．肝細胞は変化が少い．
No. 3.　125，CFT：　1：16，
H：　細胞浸潤は比較的つよい．ク氏星細胞も腫脹増殖が著明で，肝細胞の中に空胞をもつものあり．
Fe：　++，肝細胞の中間層，中心層に多い．
No. 4.　182，CFT：　−，
H：　リンパ球様細胞の浸潤，ク氏星細胞の増殖は非常に軽い．
Fe：　±．
No. 5.　168，CFT：　1：32，
H：　高度にリンパ球様細胞浸潤あり，所々結節様，No. 16 馬より軽い．
Fe：　+，ク氏星細胞に．
No. 6.　148，CFT：　−，
H：　No. 182 馬と同様
Fe：　−．
No. 7.　187，CFT：　16，
H：　欠．
Fe：　ク氏星細胞に．
No. 8.　179，CFT：　16，
H：　胆管炎の所見あり，又肝炎の所見もある．他の因子による変化か？
Fe：　−，膿瘍あり．
No. 9.　17，CFT：　−，
H：　欠．
Fe：　−．

No. 10.　15, CFT:　1:16,

H:　所々にリンパ球様細胞の浸潤が結節様に見られ，ク氏星細胞の増殖は全体に少しづつ見られる．肝細胞の変化も多少見られる．リンパ球様細胞の反応（卄）.

Fe:　−.

No. 11.　9, CFT:　1:8,

H:　細胞浸潤は軽く，ク氏星細胞は増殖し，腫脹している．肝細胞はわずかに変化あり．

Fe:　ク氏星細胞，肝細胞，グリソン氏鞘に.

No. 12.　160, CFT:　1:16,

H:　軽い細胞浸潤，ク氏星細胞の動きは少い．肝細胞は不変.

Fe:　−.

No. 13.　7, CFT:　1:4,

H:　細胞浸潤は軽く，ク氏星細胞の増殖はつよい.

Fe:　卄，肝小葉中心層，ク氏星細胞.

No. 14.　126, CFT:　1:8,

H:　リンパ球様細胞浸潤は高度，ク氏星細胞の増殖著明.

Fe:　卅，ク氏星細胞，グリソン氏鞘に.

No. 15.　41, CFT:　−.

H:　細胞浸潤は軽い．ク氏星細胞の僅な増殖，腫脹をみる．肝細胞の中に脂肪滴をもつものをみる.

Fe:　−.

No. 16.　6, CFT:　1:32,

H:　細胞浸潤は軽度，ク氏星細胞の増殖は中等度.

Fe:　卄.

No. 17.　110, CFT:　1:4,

H:　わずかにリンパ球様の細胞浸潤あり，ク氏星細胞増加，腫脹は著明.

Fe:　卅，ク氏星細胞，肝細胞に.

No. 18.　175, CFT:　1:8,

H:　リンパ球様細胞浸潤は非常に軽度．ク氏星細胞の増殖も少い.

Fe:　＋，ク氏星細胞に.

No. 19.　42, CFT:　1:4,

H:　ク氏星細胞は著明に多い．細胞浸潤は軽い.

Fe:　卅，ク氏星細胞に.

No. 20.　5, CFT:　1:16,

H:　リンパ球様細胞浸潤は割に多い．所々にその集合像あり．肝細胞は少さく，ク氏星細胞も中等度に見られる.

No. 21.　178, CFT:　−,

H:　比較的強いリンパ球様細胞浸潤を見る．結節様に集つているものもある．ク氏星細胞も多い．その増殖，腫脹を見る．肝細胞も少し染まりが濃く，やせている.

Fe:　＋.

No. 22.　104, CFT:　1:8,

H:　反応つよく，No. 16 馬と同様である.

No. 23.　182, CFT:　−.

H:　欠.

Fe:　±.

No. 24,　37, CFT:　1:16,

H:　欠.

Fe:　＋.

No. 25. 149, CFT: 1:8,

H: 正常.

Fe: −.

No. 26. 180, CFT: 1:16,

H: 細胞浸潤は軽い. ク氏星細胞の働きはつよい. 肝細胞は不変.

No. 27. 134, CFT: −.

H: 細胞浸潤は各所に著明に見られる. ク氏星細胞は少い. 肝細胞も軽く変化を見る.

No. 28. 28, CFT: 1:4,

H: リンパ球細胞の浸潤が所々に見られる. ク氏星細胞かなり多く, 鉄をもつている. 肝細胞そのものの変化は軽い.

Fe: 卌, ク氏星細胞に.

No. 29. 12, CFT: 1:4,

H: リンパ球様細胞の浸潤は比較的軽度. ク氏星細胞の増殖も軽い.

No. 30. 189, CFT: 1:8,

H: 欠.

Fe: 卌, ク氏星細胞と肝小葉中心層に.

No. 31. 141, CFT: 1:8,

H: ある程度細胞浸潤あり, 星細胞の腫脹, 増殖は中等度肝細胞はやせている. 所々に細胞の結節様集会あり.

Fe: ク氏星細胞及びグリソン氏鞘に.

No. 32. 146, CFT: −,

H: 程度は軽い, 細胞の浸潤, ク氏星細胞も少い.

Fe: −.

No. 33. 115, CFT: −,

H: 細胞浸潤は多少多い様である. 所々に結節様集合, ク氏星細胞の増殖もみられる.

Fe: −.

No. 34. 108, CFT: −,

H: 細胞浸潤は軽度, ク氏星細胞の増殖あり.

No. 35. 145, CFT: 1:32,

H: 正常,

Fe: −.

No. 36. 183, CET: 1:64,

H: 細胞浸潤軽い, ク氏星細胞は可なり腫脹, 増殖している.

Fe: 卌, ク氏星細胞グリソン氏鞘, 血液.

No. 37. 178, CFT: −,

H: 細胞浸潤著明, 集合像あり, ク氏星細胞も増殖, 腫脹している.

Fe: 卌, ク氏星細胞, 肝細胞, 血液.

No. 38. 147, CFT: 1:8,

H: ク氏星細胞のわずかな動きあるのみ.

Fe: ±, ク氏星細胞に

No. 39. 114, CFT: −,

H: ク氏星細胞の多少の動きあるのみ, 細胞浸潤は軽い.

Fe: ±.

No. 40. 182, CFT: −,

H: −.

Fe: −.

4. フランス健康馬及び伝貧馬血清のＣＦＴ． 第８，９表及び第10表にみるように15頭の健康馬血清はすべてＣＦＴ陰性，患馬血清Ｂは対照にした正常抗原で 25％ の溶血阻止がみられているのでこれを除外しても，Ａは１：16の陽性である．

即ちフランスより送られた健康馬15頭は何れも伝貧固定毒に対し陰性，又同じく伝貧馬は陽性であり，陰性のものはない．

Table 8.

CFT on sera of normal horses in France.

Normal horse in France	AC 1 : 4	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	SC 1 : 4	
2052	0	0	0	0	0	0	0	
2062	0	0	0	0	0	0	0	
2030	2	2	0	0	0	0	0	×※
2036	1	1	0	0	0	0	0	
2051	0	0	0	0	0	0	0	
2053	0	0	0	0	0	0	0	
2054	0	0	0	0	0	0	0	
2055	0	0	0	0	0	0	0	
2056	3	3	0	0	0	0	0	×※
2061	0	0	0	0	0	0	0	
2066	0	0	0	0	0	0	0	
2067	0	0	0	0	0	0	0	
2068	1	1	0	0	0	0	0	
2069	0	0	0	0	0	0	0	
1975	1	1	0	0	0	0	0	

※ See Table 10

Table 9.

Complement fixation test (egg-antigen of No. 1-strain) and cardiolipine glass-plate test of human syphilis-, EIA-, immunized horse- and nomal-sera.

		SC 1:4	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	AC 1:4	Cardiolipine glass-pl. T.
Human syphilis	No. 62	0	0	0	0	0	0	0	++
	〃 67	0	0	0	0	0	0	0	++
	〃 72	0	0	0	0	0	0	0	+++
	〃 73	0	0	0	0	0	0	0	++
	Normal	0	0	0	0	0	0	0	−
EIA	No. 79	0	4	4	2	2	0	0	+
	〃 81	0	3	2	2	0	0	0	++++
	〃 84	0	4	2	0	0	0	0	+
	〃 85	0	2	2	0	0	0	0	−
	〃 95	0	4	2	0	0	0	0	−
IH		0	4	4	4	2	0	0	++++
France	A	0	4	3	2	1	0	0	+
	B	0	4	2	1	0	0	1	+
Normal, (France)	No. 2069	0	0	0	0	0	0	0	−
	〃 1975	0	0	0	0	0	0	0	−
	〃 2067	0	0	0	0	0	0	0	−
	〃 2030	0	0	0	0	0	0	0	−
	〃 2056	0	0	0	0	0	0	0	−

Notes: EIA: Equine infectious anemia　　gl-pl. T.: glass-plate Test
IH: Immunized horse

伝貧固定毒抗原によるＣＦＴとカルジオライピンガラス板法による成績は第９表の如くであつた．即ち人の血清に対して固定毒抗原によるＣＦＴはすべて陰性，カルジオライピンでは梅毒患者血清は何れも陽性で++ 3名，+++ 1名，健康人は陰性，伝貧馬血清ではフランス馬も加え７頭行つたが，固定毒抗原に対し陰性は１例もなく，（1:32 陽性１，1:16 陽性２，1:8 陽性３），カルジオライピン法では＋が４頭，++++が１頭，陰性のものが２頭あつた．フランス健康馬は５頭行つたが，固定毒，カルジオライピン何れの抗原に対しても陰性であつた．伝貧固定毒超免疫馬は免疫用抗原がマウス脳乳剤であるから陽性に出たのも当然であろう．固定毒抗原に対し 1:32 陽性，カルジオライピン抗原に対し++++であつた．

要するに固定毒抗原はカルジオライピンの如き脂質性抗原ではなく，かつカルジオライピンより特異性がつよい．

6.　純鶏卵通過伝貧固定毒 No. 6 及び No. 12 株の鶏胎児抗原によるＣＦＴ及び No. 1 株マウス脳抗原との比較．

一度もマウスを通過させない，孵化鶏卵漿尿膜材料による抗原を用いて患馬血清に対する抗原の特異性を検した結果は第10表の如くである．即ち患馬血清に対しては No. 1 株によるものより多少

Table 10.
Complement fixation test with egg and mouse-brain antigens.

Antigen		SC	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	AC
Mouse-brain (Strain No.-1)	No. 79	0	4	4	2	0	0	0
	〃 84	0	4	2	0	0	0	0
	〃 85	0	2	0	0	0	0	0
	〃 2069※	0	0	0	0	0	0	0
	〃 1975※	0	0	0	0	0	0	0
CAM of egg (Strain No. 6)	No. 79	0	2	2	0	0	0	0
	〃 84	0	2	1	1	0	0	0
	〃 85	0	0	0	0	0	0	0
	〃 2069※	0	0	0	0	0	0	0
	〃 1975※	0	0	0	0	0	0	0
CAM of egg (Strain No. 12)	No. 79	0	2	1	1	1	0	0
	〃 84	0	2	0	0	0	0	0
	〃 85	0	0	0	0	0	0	0
	〃 2069※	0	0	0	0	0	0	0
	〃 1975※	0	0	0	0	0	0	0

Note: ※: Normal horse in France
CAM: Chorioallantoic membrane

Table 11.
Precipitation test of sera out of EIA or normal horse.

Serum	No. of horse	Antigen	Dilution of serum						Titer of CFT
			1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	
EIA	73	A B	++ ++	++ ++	++ ++	+ +	+ +	− −	8 ×
	S	A B	• •	+ +	− −	− −	− −	− −	2 ×
	D-3	A B	• •	++ ++	++ ++	+ +	± −	− −	8 ×
	Si-1	A	+++	+++	++	+	±	−	8 ×
	Si-2	A	±	+	+	±	−	−	8 ×
	D-2	A	+++	++	+	±	±	−	8 ×
Normal	I-22	B	±	±	•	•	•	•	−
	I-23	B	±	−	•	•	•	•	−
	I-24	B	−	−	•	•	•	•	−
	I-26	B	±	±	•	•	•	•	−
	I-27	B	±	±	•	•	•	•	•
	I-28	B	±	±	•	•	•	•	•
	I-29	B	−	−	−	±	−	−	−
	I-30	A B	− −	− −	− −	− −	− −	− −	−

抗原価が落ちたが No. 1 株同様特異性をもつことが明になつた.

7. 固定毒抗原による患馬血清の沈降反応について.

第11表に示すように試験管の後に黒紙をあてて判定すれば可なり簡単に陽性をみとめうる. ただCFTで陰性ないし豪州馬で疑陽性が10例中5例あつた.

考　　察

序論で述べたように従来伝貧患馬血清のCFTは非特異的CFTが大部分で, ウイルスそのものを抗原とするCFTは甚だ少い. 診断的価値について注目をあつめた Altara の患馬脾臓アルコール抽出抗原も健康馬と伝貧馬の鑑別上極めて有効で, Serra, 市川その他[17]によると欧洲馬で病理組織学的変化なく, 臨床症状もないものは 97% 陰性, 自然感染又は実験的感染馬はすべて陽性である. 又伝貧の少ない地域の馬の大部分は陰性, 多い地方の馬は疑はしい反応を呈する. 伝貧でないか, あるいは健康でしかも陽性のものは手技の欠陥によるものとするが, しかし伝貧でなくて血清反応陽性の馬のうちには体の状態の悪い場合に来るものもあるとし, 組織学的所見に最後の根拠を求めている. これは抗原の性質上非特異的のものが多少出てくることは当然と考えられる. 市川等によると本抗原は脂質性のものであり, Ulbrich によるとカルジオライピンに最も近いという. われわれの固定毒による抗原はその陽性度に於て Altara 抗原によるものと甚だ似ているが, 脂質性少くともカルジオライピン性のものではないことは今昔の実験で明かにされた. 即ち梅毒患者血清は勿論, 健康人患者のそれともこの固定毒抗原によるCFTは陰性であり, その特異性は少数例ではあるが, カルジオライピンにたち勝つている. 又孵化鶏卵漿尿膜培養抗原でも脳抗原にやや劣る程度の抗原性をもつている.

われわれは貴重な馬を材料とすることなく, 随意に随所に抗原をつくり, かつ一定度のものを常に比較的容易につくり得ることは実用上その特異性と共に重視しうるものではなからうか. 又本抗原がマウス脳その物に依存していないことは正常抗原対照はもとより, 純鶏卵通過病毒抗原を以つてしても同様に特異反応を呈することからでも明かである.

接種伝貧馬のCFT陽性転化は担鉄細胞の出現と一致しており, しかも第1回熱発作と共に陽転してきたことは本反応が実用上相当の価値あることを示唆する. しかもこの熱発作直後屠殺したのであつたが, 肝及び脾臓には特別の変化はみとめていない. 臨床症状としては熱発作と白血球の減少, 血色素量の多少の低下, 赤血球沈降速度の促進と担鉄細胞をわずかにみとめただけであつた. しかもこの際接種した馬血清は熱発作時の血清 400cc 以上を接種し, この血清からマウスへの病毒分離に成功した良材料を以つてしたものであつた.

1956 及び1957年を通じ芝浦屠殺場に送られた伝貧馬のうちCFTを行つて判定可能のもの計 232頭中陽性は175頭 (70.54%) であつたが, このうち被検馬71頭中14頭 (19.71%) が肝臓組織に鉄反応もなくCFTも陰性であり, 検査の日が遅くなるにつれて陽性度が低下することと併せ考えると, 非伝貧馬を伝貧馬として処分されたものがないとはいえず, CFT, 肝臓鉄反応陰性の馬の中には伝貧にあらずして屠殺されたものが相当ありうることを示唆する. すなわち非伝貧馬であつたにも拘らず馬主の意志に反して行政的処分をうけたものも含まれているかとも考えられる. 馬主の被害をできるだけ少くするためには本法の併用は相当貢献しうるのではあるまいか.

他方この伝貧馬を除外すれば上記両反応陰性 19.71% と考え合せると, 本CFT反応の陽性率はぐんと高まつてくる. 大方の御検討を煩はしたいところである.

沈降速度は手技が簡便であるから若し特異性が判然とすれば, 野外検査の上からは大いに便利であろう. 今回の実験では本法は必ずしも悲観すべきものではないように思はれる. 今後更に討究さるべき問題であろう.

結　　　論

1. New Hampshire 株罹患発作時の馬血清を当才の健康馬に 415cc 皮下に注射して伝貧発作を起させた．この際熱発作出現と共にＣＦＴ陽転し，担鉄細胞も出現した．しかし肝臓及び脾臓には特に異状をみとめなかつた．

2. 豪州より輸入された馬50頭中ＣＦＴ陽性は１例もなかつた．

3. 1956-7 年に芝浦屠殺場に伝貧馬として送られた馬計 263 頭中判定可能であつた 232 頭中陽性175頭（70.54％）あり，又同じく71頭中肝臓の鉄反応とＣＦＴ共に陽性26頭，ＣＦＴのみ陽性21頭，肝臓鉄反応のみ陽性10頭，両反応陰性14頭あり，又同じく肝臓に於ける細胞浸潤とＣＦＴ共に陽性37頭，ＣＦＴのみ陽性14頭，肝臓鉄反応のみ陽性８頭，両反応陰性６頭であつて，伝貧にあらずして伝貧として屠殺される馬が相当あることを示唆した．

4. 固定毒抗原はカルジオライピン又は Altara の抗原とは異り，又特異作用もより強いことを示した．

5. 純鶏卵通過固定毒抗原もマウス脳通過抗原同様の特異性を示す．

6. 固定毒ＣＦＴ抗原は沈降反応用抗原としても使用しうる可能性がある．

終りに本研究は北海道庁伝貧研究費に負うところが大きい．謹んで田中北海道知事，金丸同総務部長，福岡同農務部長，田中畜産課長，高橋同次長，山本，石本両技師その他関係各位の御厚情を衷心より感謝する．

又本研究に当り恩師矢追教授の御激励，並に本学名誉教授故細谷省吾博士，O.I.E. の長 G. Ramon 教授，フランス農務省 Laboratoire central de recherches vétérinaires の長 J. Verge 教授，東大農学部山本脩太郎教授，同医学部大津正一助教授，横浜税関入江動物検疫所長，家畜衛生試験場市川収博士その他関係各位，予研村田良介博士，芝浦屠殺場中島検査室長の御厚意と御協力を深く感謝する．

文　　　献

1) Hempl, J., Z. Infekt. Haustiere 5, 381, 1909.
2) Wirth, D., Monat. Tierheilk, 29, 97, 1918.
3) Lührs, Z. Vet. Kunde, 33, 66, 1921.
4) Zeller, H., Z. Infekt. Haustiere, 26, 67, 1924.
5) Mohler, W.M., J. Amer. Vet. Med. Ass., 88, 624, 1936.
6) Traub, E., Walbrecht, H., und Schaffer, W., Berl.-Münch. Tier. Wschr. 134, 1941.
7) 並河才三，陸軍獣医団報 406, 441, 1943.
8) Dreguss, M.N. and Lombard, L.S., Experimental Studies in Equine Infections Anemia, University of Pennsylvania Press, Philadelphia, 1954.
9) 根岸孝，藤野安彦，西武，北海道庁伝貧報告　I, 295, 1955.
10) Altara, I., Serra, A. et Guarini, G., Bull. Off. Intern. Epiz., 39, 708, 1953.
11) Itikawa, O., Takanami, M., Shibata, T., Bull. Off. Intern. Epiz., 45, 243, 1956.
12) 市川収：馬の伝染性貧血における補体結合反応（イタリア法）の研究，農林省家畜衛生試験場，1956.
13) Ulbrich, F.: 12) 103頁より，1956.
14) 臨時馬疫調査委員会，II, 1914.
15) 槙村浩，陸軍獣医団報 411, 1025, 1943.
16) 荒川清二，兼子千秋，関富雄，武藤進，生体の科学，4, 47, 1952；Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T. und Muto, S., Wien. Tierärztl. Mschr., 40, 321, 1953.
17) 蓮見喜一郎，北海道庁馬伝染性貧血研究報告 I, 1, 1955, 同 II, 1, 1957.
18) Serra, A, Itikawa, O., Guarini, H., Milone, M., Ambrosino, G., et Liberatori, J. Bull. Off. Intern. Epiz. 46, 626, 1956.

Experimental studies on equine infectious anemia (EIA)
V. Complement fixation test and precipitation test of horse-serum with mouse-fixed EIA virus antigen

By

Seiji Arakawa, Tiaki Kaneko, Susumu Muto, Noboru Tsurumi, Katutosi Murakami and Tomio Seki

The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo

1) A Pony which was inoculated subcutaneously with 415 cc of serum bled from a infected horse at febrile stage fell sick with infectious anemia at 15 days after inoculation. Complement fixation test of serum of the pony with fixed virus antigen changed to positive at the stage of the febrile attack. Siderocytes were observed at this stage, too. Characteristic histopathologic changes were found neither in liver nor in spleen.

2) All fifty horses which were imported from Australia showed no positive complement fixation test and also the 15 normal sera from France proved of negative complement fixation test. But a infectious serum from France proved of marked positive reaction. The sera from France were kindly sent to us by Prof. J. Verge, Director of the Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires through the courtesy of Prof. G. Ramon, Director of the Office International des Epizooties.

3) One hundred and seventy five (70.54%) out of 232 horses which were transported as infectious anemia horse to slaughter-house at Tokyo in 1956–57 showed positive complement fixation test. Twenty six out of 71 horses which were examined on histophathologic change in liver and complement fixing antibodies proved positive at both examinations. Other 6 horses were negative at both examinations. This result suggests the probability that some non-infectious anemia horses were killed as infectious anemia.

4) The antigen of mouse-fixed virus differs from that of Altara or cardiolipine and in more specifity than the latter.

5) The antigen of egg-adapted virus showed the same specifity as mousefixed virus.

5) The antigen of mouse-fied virus can be used for precipitation test.

馬伝染性貧血の実験的研究
第 1 報
A-ウイルスの馬体接種成績

横浜医科大学細菌学教室

矢追秀武，永田　昭，後藤宣政，斎藤勝江

まえがき

馬伝染性貧血ウイルスの分離は Carré et Vallée (1906)[1] 以来多数の人々によつて試みられたが現在なお至難の業であり，稀れには成功したという報告があつても結局誰でも出来るというものではなかつた.[2)3)]

しかるに最近，特にマウス接種に関して有望な報告があらわれた．即ち Hallauer u. Moosbrugger (1949)[4] は 10g 以下の幼若マウスの伝貧ウイルスに対する感受性を認め，次いで荒川，兼子，関，武藤(1952)[5)6)] は幼若マウスの脳内接種により，或は予め孵化鶏卵 (CAM) を通過してマウスの脳内に接種するという恰も矢追，荒川[7)8)]のデング熱ウイルス分離以来の手段によつて比較的容易に伝貧ウイルスをマウス（脳）に固定し得たという極めて重要なる報告をした．そして，得られた数株の固定毒が伝貧ウイルス超免疫家兎血清によつて何れも中和され，補体結合反応も成立すると述べている.

しかし，石井，園田，小林，田中 (1954)[9]；Fortner et Ulbrich (1954)[10]；田淵，小林，山本 (1954)[11] は何れも幼若マウスの脳内接種について陰性の結果を示している．実は吾々もマウス脳内接種による分離固定を試みたがなおその目的を達し得ないでいる.

他面，Dreguss & Lombard (1954)[3] は少くとも5代までは伝貧ウイルスのマウス継代が可能であり，又かかる僅か数代の異種動物の通過によつて馬に対する病原性が著しく変化するが馬体を通過すると次第に病原性が恢復したと述べている．但し彼等は成熟マウスを供試し，鼻腔内及び腹腔内接種併用法をもつてしている.

これを要するに荒川氏等の幼若マウス脳内接種による伝貧ウイルスの分離は今日なお他の追随を許さざるものである.

そこで細谷博士は荒川氏等の固定毒の馬体復帰試験を企てられ，諸準備を終つて正に本実験に着手しようとして不幸急逝された．そのため吾々は故細谷省吾名誉教授に代つてこの馬体接種実験を行い若干の成績を得たので報告する．尚記載の便宜上，荒川氏等の固定毒をA-ウイルスと略記することにした.

実験材料及び方法

荒川博士より分与を受けた2株の固定毒を併用したがその由来は下記の如くである.

No. 1 株： 1950年にマウス脳内接種7代で固定されたもので，分与された時はその後僅か3代しか継代されておらず，マウス継代10代目の株である.

NO. 12 株 (E_9M_2)：家畜衛生試験場よりの86号感染馬血清を健康仔馬に 100cc 皮下注射 (16/Ⅲ, 1957)，更に10cc 静脈内注射 (20/Ⅲ，'57) したところ 26/Ⅲ，'57 に 40°C の熱発作あり，その血清を孵化鶏卵漿尿膜に 0.2cc 接種し，5日毎に9代継代した後，マウス脳内接種2代で固定したものである.

馬体接種実験には対島産の済州島純系馬2頭（1号馬及び2号馬）を使用した．1号馬は4才,

♂，鹿毛種で，2号馬は同じく4才，♀，栗毛種である．ともに長期にわたる血液検査，肝臓穿刺試験によつて伝貧感染が完全に否定されている．

飼料の1日量は1頭当り麬 2.0kg，燕麦 1.0kg，乾草 4.0kg，藁 4.0kg（切藁ともに），水適当量である．

飼育場所は（東京都北区西ヶ原）農林省動物医薬品検査所構内で伝貧汚染の危険性は全くなく極めて好適なところである．厩舎は間口1間，奥行き2間，床面，側面はコンクリート，入口には金網張りの開戸があり，その上，奥には金網張りの窓があつて水洗，排水，通風，昆虫遮断などの点が大凡備わつていた．

そして，1号馬には No. 1 株（マウス株），2号馬には NO. 12 株E_9M_2（鶏卵株）を夫々接種した．

即ちこれらの病毒株を夫々多数のマウスに脳内接種し，発症後殺して採脳，Homogenizer にかけ，0.5% 膠加生理的食塩水（pH 7.6）で10%乳剤となし，3,000 r.p.m.，30分遠心してその上清を，分離し，これに Penicillin 及び Streptomycin を加えて一定期間氷室に保存したのち実験に供した．

本実験材料はいずれも普通寒天，ブドー糖寒天，ブドー糖血液寒天，Thioglycollate 培地等で雑菌陰性であつた．

因みに No. 1 株をマウスの脳内に接種すると，第3病日後半に於て一部は過敏性を帯び，軽微な物音にも驚き，往々蓋をとつた途端に遁走する．第4病日には毛を立て，尾を立て，背を丸くし，眼を潤ませ，運動不活発となり，食欲は急に減退し，呼吸は深くなる．第5病日には上記の症状に加えて腹部緊張感が失われ，四肢特に後肢の弛緩性麻痺を来たし死亡するに至る．尚死亡直前に於て眼を閉じ，不随意と思われるような四肢の運動を示すものがある．

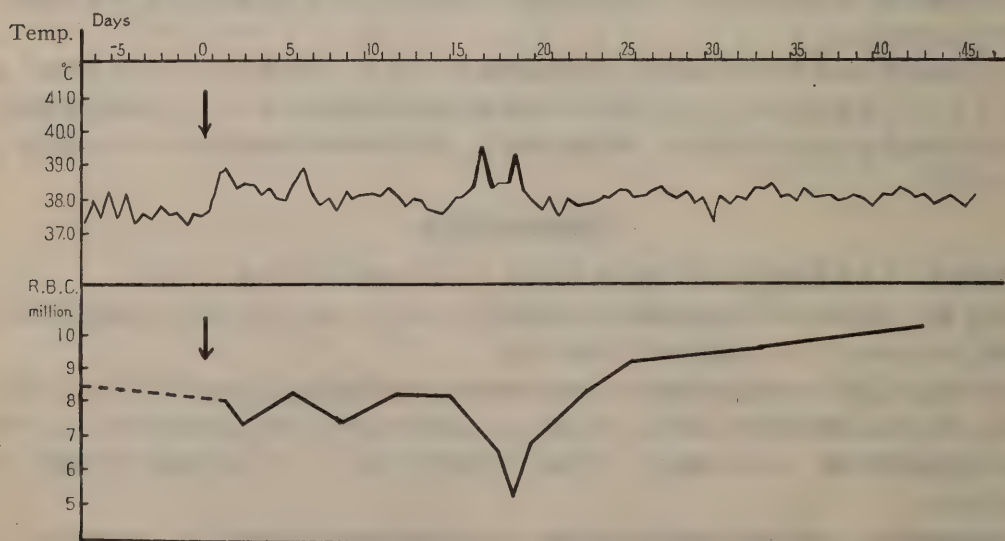
実施成績

1号馬について：

1957年6月より9月までの4カ月を原則的な観察期間とした．

前述のようにして作つた10% マウス脳乳剤（No. 1 株）を左頸部に 1,171 cc，右頸部に 1,058 cc，計 2,229 cc 皮下注射し，更に左頸部静脈内に同材料を4万回，1時間の超遠心で10倍濃縮したものを 110 cc 注射した．

（1） 熱　　型

Fig. 1. Re-transmission of Arakawa's virus (No. 1) to horse: fever response, erythrocyte.

ウイルス接種前は 37.2°C～38.2°C を上下していたが，接種1日後に 38.9°C に上昇し，その後日々下降し，4日後の午前には 37.9°C になつたが，午後から発熱し始め，6日後 39.0°C に達した．

しかし7日後には正常体温となりそのまま15日後まで正常体温を保つていたが，16日後に至つて急に 39.5°C の熱発作を示した．その翌日には 38.2°C に下降したがその翌日には再び 39.2°C を示した．

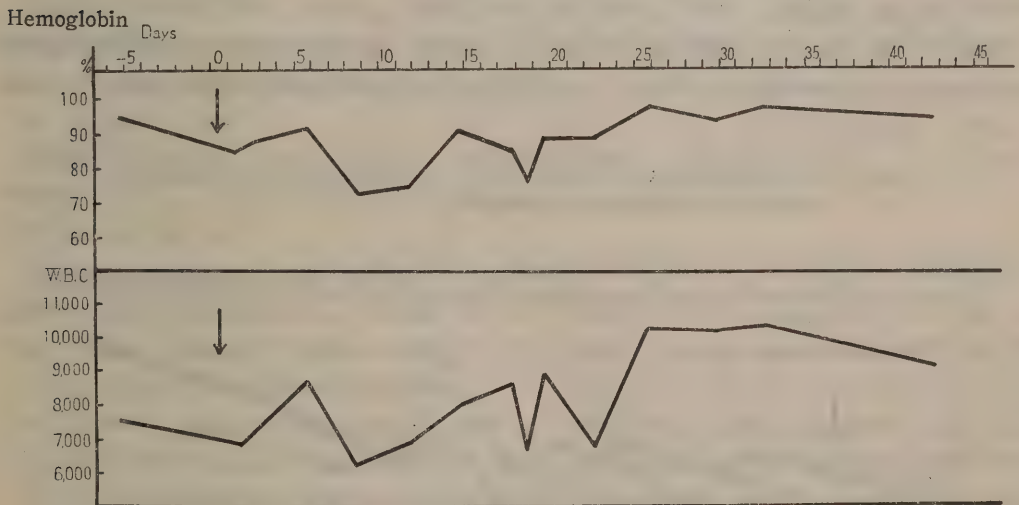
その後は半年以上かかる熱発作なく，試験を中止した（Fig. 1 参照）．

（2） 赤 血 球 数

接種前の平均値は 840万/mm³ であつた．接種後も大した変動なく，多少の発熱を示した接種1日後及び6日後にも著しい変化はなかつた．しかるに，16日後の熱発作の翌日より減少し始めて，更にその翌日には最底値たる536万を示した．しかしその翌日より漸次恢復して正常値となり，最後まで注目すべき変動を示さなかつた．

（3） 血 色 素 量

接種前の平均値は 94% であつた．接種直後僅かに減少したが，5日後は正常値にもどり，6日の体温上昇後に再び減少して 73% となつた．しかし，11日より14日にかけて再び正常値となり16日の熱発作後に再び減少して 76% となつた．しかし，その3日後に正常値となり，以後は著しい変化を示さなかつた．

Fig. 2. Re-transmission of A-virus (No. 1) to horse: hemoglobin, leucocyte.

（4） 白 血 球 数

接種前の平均値は 7,960/mm³ であつた．接種後も余り変化なく，8日後（6,200）及び11日後（6,850）に軽度の減少を示したが，その後は恢復し，熱発作2日後に再び減少し（6,600），間もなく稍増多症（10,200～10,400）を示した．その後（63～66 日後），もう1度 5,950 に減少したが，それ以来最後まで大した変化を示さなかつた．

（5） 白 血 球 像

白血球数は下記の如く，可成り興味あるものと考えられる．

a）単球：接種前の平均値は 3.0% であつた．接種直後多少増加したが，6日後には反対に減少し，その後は徐々に増加して，16日後の熱発作時には 5.7% となり，再び減少して19日後には1.0 の低値を示した．その後徐々に増加して32日後には 9.4%，42日後には 12.4% といつた具合に著しい単球増多症を示した．しかしその後かかる増多症は遂に見られなかつた．

b）好酸球：接種前の平均値は 4.0% であつた．接種の翌日は殆んど消失したが、徐々に出現し，その後2週間は正常値を僅かに上下していたが，16日の熱発作時に復々減少して2.0%となり，熱分利に従つて急激に増加して 12.1% の高率を示した．しかし発熱日より6日後には正常にもどり，以後は正常より稍高目の値を持続した．

c）好中球：接種前の平均値は 49.9% であつた．接種後多少の変動があつたが16日後の熱発作時には 87.3% という高率を示し，熱分利に従つて徐々に減少し，29日後には淋巴球の増多に伴う比較的好中球減少症を呈し最底値の 19.7% に達した．しかし32日後には正常値に復した．その後は大した変動がない．

d）淋巴球：接種前の平均値は 42.7% であつたが，接種直後より減少の傾向を示し，8日後に29.6% になつたが，11日後には正常値にもどり，16日後の熱発作時には比較的淋巴球減少症を呈した．しかし熱分利に従つて復た正常値をとりもどし，29日後の好中球減少に伴う比較的淋巴球増多症を呈した．その後は大した変化がない．

e）好塩基球：殆んど問題にならなかつた．

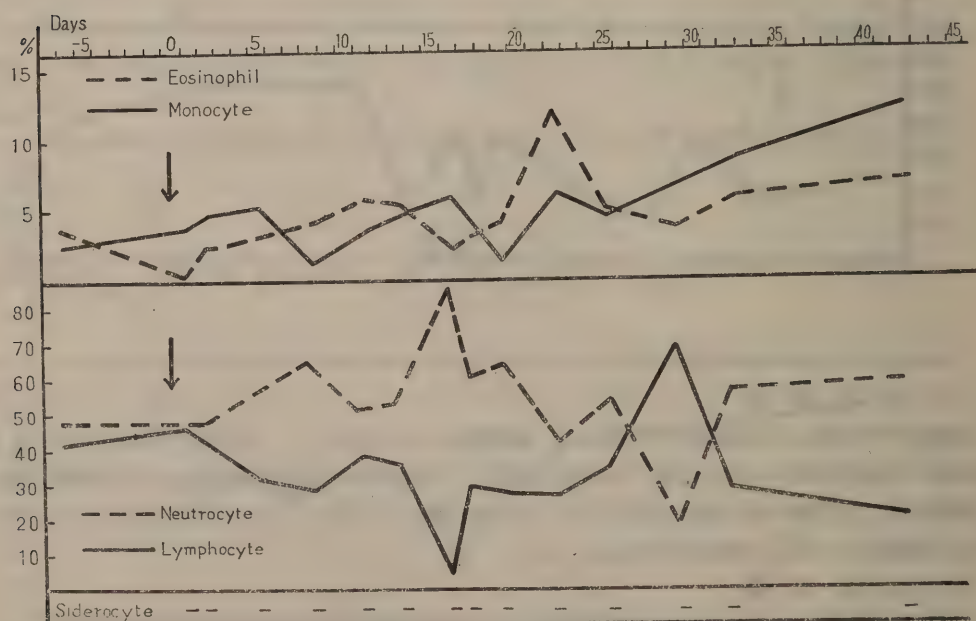
（6）担　鉄　細　胞

接種前は勿論，接種後に於てもこれを見出し得なかつた．

（7）肝　臓　穿　刺

接種前は勿論，組織学的に異常を認めなかつた．接種後，16日後の熱発作時より9日後及び112日後の両回に肝臓穿刺試験を行つたが，ともに伝貧と思われる病理組織学的変化は認めなかつた．

（8）一 般 症 状

Fig. 3. Re-transmission of A-virus (No. 1) to horse: eosinophil, monocyte, neutrocyte, lymphocyte, siderocyte.

a）心音： 接種前の心音数は平均 50/m. であつたが，熱発作時には 56/m. となり，熱分利後は元にもどつた.

b）眼結膜： 特に16日後の熱発作後3日間にわたつて著しい充血が認められた.

c）腱反射，脳症状，発汗，大小便について特記すべきことがなかつた.

2号馬について：

1957年7月より10月までの4ヵ月を原則的な観察期間とした.

前述のようにして作つた 10% マウス脳乳剤（NO. 12 株E_9M_2）を左頸部に 750cc，右頸部に 758cc 計1,508cc 皮下注射し，更に同乳剤を左頸部に 1.5cc 宛8ヵ所計 12cc 皮内注射した.

1）熱　　型

接種前は 37.4～38.0°C の間を上下していたが，接種1日後には 38.6°C に上昇し，徐々に下降して4日後の午前には 37.8°C を示したが，その午後再び 38.5°C に上り，その翌々日より平熱に復した．しかるに15日後に至つて再び 38.6°C に上昇した．この熱発作は大して高くはないが時期的には1号馬の場合と一致している．しかし，間もなく平熱となり終りまで特記すべき体温の変化はみられなかつた.

2）赤 血 球 数

接種前は平均値 682 万で元々少かつたが，接種後もあまり変動を示さず，15 日後の熱発作時にも著しい変化を示さなかつた． 接種29日後に至つて全経過中の最底値 540 万を示したが，この馬の正常値よりすれば強い赤血球減少症とはいえなかつた.

3）血 色 素 量

接種前の平均値は 72% であつた．接種6日後に若干減少したが直ぐ元にもどり，15 日後の熱発作時には最低値たる 64% を示した．しかしこれも 19日後には正常値となり，その後は注目すべき減少を示さなかつた.

4）白 血 球 数

接種前は平均 7,480 であつたが接種2日後に急激に増加して 10,900 に達した．しかし間もなく平常値にもどり， 4～6日後乃至15日後の発熱時にも大した変化を示さなかつた.

5）白 血 球 像

a）単球： 接種前の平均値は 3.2% であり，接種4～6日後でも大した変化はなく，15日後の熱発作時にも僅かに高い値を示したのに過ぎなかつた（5.4%).

b）好酸球： 接種前の平均値は 4.8% であつた．接種4～6日後，及び 15日後の変化は1号馬ほど著しくはないが大体同様の推移を示した.

c）好中球： 接種前の平均値は 54.2% であつた．接種の翌日には 73.7% に増加したが，6日後には正常値となり，15日後の熱発作時に於ても変化なく，それ以後も大した変化を示さなかつた.

d）淋巴球： 接種前の平均値は 40.0% であつた．接種3日後に 20% まで減少したが， 6日後には正常値となり，15日の熱発作時にも，またその後においても余り大した変化を示さなかつた.

6）担 鉄 細 胞

終始検出し得なかつた.

7）肝臓穿刺試験

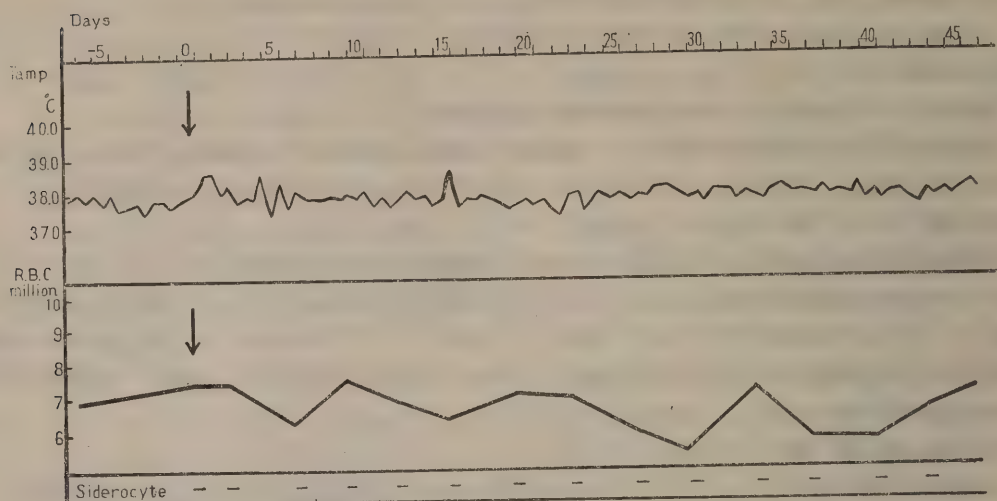
接種前は勿論「陰性」であつたが，この馬に於ては熱発作が著しくなかつたので 88日後に始めて肝臓穿刺検査を行つて見たが，矢張り伝貧を思わせるに足る組織学的所見は得られなかつた.

8）一 般 症 状

a）心音： これという変化なく， 1号馬同様心雑音を聞かなかつた.

b）眼結膜： 1号馬とは違つて，全経過中結膜の充血をみとめなかつた.

c）腱反射，脳症状，発汗，大小便等について特記すべきことなし.

Fig. 4. Re-transmission of A-virus (NO. 12-strain) to horse: fever response, erythrocyte, siderocyte.

〔附〕 補体結合反応の成績

後報に詳記する如く，A-ウイルス No. 1 株を抗原として1号馬及び2号馬について補体結合抗体の消長を検べたところ，No. 1 株を接種した1号馬に於ては当然の事ながら本抗原との間に特異的反応が認められた．即ち病毒接種後22日頃より抗体価の上昇がみとめられ，30～40 日後に最高となり以後徐々に下降したが，160 日後でもなお多少の抗体が認められた．

しかるに，NO. 12 株E_9M_2 を接種した2号馬の血清は本抗原に対して極めて僅かに反応したのみであつた．

考　　察

1号馬の所見について：

伝貧の診断にあたつて最も大切な所見は貧血を伴つた熱発作である． 1号馬における A-ウイルス No. 1 株接種直後の体温上昇は，ウイルスよりも寧ろ多量の異種蛋白によるものと考えられる．しかし，接種6日後の体温上昇は同ウイルスをマウスに接種したとき 3～4日後に発症することからも異種蛋白の影響よりウイルスの増殖が多分に問題になり得ると思われる．

しからば，この熱発作に伴う血液所見は如何というに赤血球は熱発作後僅かに減少するが，それも生理的範囲に止まつている．

血色素の減少は顕著であるが，白血球像の変化がこれに伴わない憾みがある．

その上担鉄細胞の出現もなく，この発熱を伝貧ウイルスに関連するものと判断するには不充分である．

これに反して接種16日後の熱発作は 39.5°C という可成りの高熱であり，しかも弛張型とはいえ16日より18日にわたる3日間の熱発作であり，時期的にも伝貧に応わしい．研究者によつて区々であるが，石井，田中[12]は伝貧の潜伏期は大体2週間であるといつている．

赤血球数は発熱前に 840 万あつたものが件の熱発後徐々に減少して，最低値の 530 万に達し，且つそれが熱分利に従つて次第に恢復している．この経過は正に伝貧の像に一致している．

更に血色素は先の赤血球の減少と併行して減少している．

白血球は熱発作に関連して多少減少し，その後約1週間にわたつて増多症を来たしている．従つ

て，白血球数は熱発作と共に増加し，その極期，分利期に減少する傾向があるという石井，渡辺[13]の記載に照らすと本実験の成績は多少ずれてはいるが，相当注目に価するものと思われる．

単球は熱発作時には増加せず，22日後より徐々に増加して42日後に最高値の 12.4% を示している．諸家も伝貧の熱発作時には寧ろ減少し，熱分利から間歇期にかけて増加する傾向があるといつている．この点よりすれば，本成績は非常に有意義である．

好酸球に関しては，石井，渡辺[13]は熱発作初期には減少し，熱分利に従つて恢復すると報告し，他の諸家も大体同様の所見を述べている．

吾々の成績でも熱発作時には 2.0% に減少し，熱分利数日後に 12.1% まで増加した．本細胞の増加が果して熱分利に伴う増加であるか，或は他の原因によるものであるかはなお問題ではあるがこれ亦一応注目すべき所見である．

好中球に関しては熱発作前には大した変化なく，熱発作時に 87.3% に増加し，熱分利に従つて激減して，29日後には淋巴球増多に伴う好中球の減少が明らかに見られる．

かくの如く熱発作に際して好中球が一旦増加し，熱分利にそれが減少するに従い淋巴球が逆に増加してくる傾向は伝貧発作の経過に於て屢々見られる所見であり，本成績も有意義なものと思われる．但し吾々の場合は伝貧の診断上重視されている担鉄細胞を全経過中検出できなかつた．しかし明らかに伝貧発作の場合でも本細胞の検出できない場合もあるから，この担鉄細胞陰性のみで，1号馬の伝貧発作を否定し去ることは出来まい．

肝臓穿刺検査は熱発作後2回実施したが，ウイルス接種前と組織学的に何等区別することができなかつた．

このことは伝貧を確認するのに少しでも組織学的変化がなければならない病理学者の立場よりすれば甚だ悲観的材料ではあるが，吾々の場合は只1回の熱発作であり，肝臓の病変を起すに至らなかつたか，或はウイルス自体が既にかくの如く変異したとの推測が可能である．

先に Dreguss & Lombard はマウスを5代通過した材料を，馬3代通過して初めて伝貧固有の病理組織学的変化を証し得たといつている．

一般症状の中，眼結膜の充血だけが注目すべきものであつたが，伝貧発作時における眼結膜の充血は屢々報告されている．

A-ウイルス No. 1 株を抗原とする補体結合反応は初期は陰性であつたが，熱発作後から徐々に陽性となり長期間存続している．

2号馬の所見について：

ウイルス接種直後の体温上昇は1号馬と同じく異種蛋白の影響とみられるが，15日後の体温上昇は1号馬の熱発作と帰一しており，たとえ 38.6°C という低熱であつたにせよ注目に値すると思う．

併し赤血球及び血色素の減少はさほど強くなく，その他白血球数並びに像については殆んど注目に価する変化がなかつた．

一般状態でも特記すべきものがなく，況んや担鉄細胞の出現，肝の病理組織学的変化に於てをやであつた．又，A-ウイルス No. 1 株抗原に対する補体結合反応が極めて微弱であつた．

即ち2号馬に於ては比較的軽度の熱発作及び赤血球の減少以外には伝貧の発作と思われる所見は殆んど得られなかつた．

以上の如く，1号馬と2号馬とで所見が可成り著しく異なつている．その原因がマウスのみで分離固定したか(No. 1 株)，或は孵化鶏卵を介して分離固定したか (NO. 12 株E_9M_2) という固定毒化法の根本的相違によるか，それとも注射量乃至方法の相違にあるかについては今後の研究にまちたい．

結　　論

吾々は荒川及び協力者によつて伝貧感染馬血清より得られたマウス脳固定毒2株 (No. 1 株及び

NO. 12 株E_9M_2）をそれぞれ済州島系馬1頭ずつに接種した．

No. 1 株（マウスのみで分離）を接種した1号馬は16日後に可成り定型的な熱発作を示し，これに伴つて強い貧血を起した．

白血球の像についても伝貧に一致する点が多々あつた．

しかるに NO. 12 株E_9M_2（孵化鶏卵で分離）を接種した2号馬においては熱発作，貧血は認められたがともに極めて軽度であつた．

謝　　　辞：

本研究の実施にあたつては格別農林省動物医薬品検査所，川島所長の御厚情に浴しました．深謝致します．同時に，あらゆる御援助を惜しまれなかつた同所々員山口部長，鈴木課長，佐藤室長，花木技官，西村技官の各位に厚く御礼申上ます．

又材料，技術面において数々御協力いただいた農林省家畜衛生試験場，石井，星両部長；田中，田淵両室長；園田，山本，榊技官の各位に厚く御礼申上げます．

最後にこの報告を故細谷省吾博士に捧げたいと存じます．

尚本研究出版につき特別の配慮を賜わつた田中北海道知事，金丸総務部長，福岡農務部長はじめ畜産課の各位に深甚の謝意を表します．

文　　　献

1) Carré, H. et Vallée, H.: Recherches cliniques et expérimentales sur l'anémie pernicieuse du cheval (Typho-anémie infectieuse). Rev. Gén. Méd. Vét., 8, 593, 1906; 9, 113, 1907.

2) 葛西勝弥（監修）：馬の伝染性貧血，上，下．1949（養賢堂発行）．

3) Dreguss, M. and Lombard, L. S.: Experimental studies in equine infectious anemia. University of Pennsylvania Press (Philadelphia), 1954.

4) Hallauer, C. und Moosbrugger, G. A.: Untersuchungen über das Virus der infektiösen Anaemie der Pferde. Schweiz. Arch. Tierh., 91 (Nov.), 28, 1949.

5) 荒川，兼子，関，武藤：馬伝染性貧血に関する実験的研究（第1報）．病毒をマウス脳等に分離固定することについて．生体の科学，4（3），143-144，1952．

6) Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T., Muto, S.: Experimentelle Studien über das Virus der infektiösen Anämie der Pferde. I. Mit.: Isolierug und Fixierung des Virus in weissen Mäusen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift, H. 6, 40. Jahrg., 321-326, 1953.

7) 矢追，荒川：デング熱の病毒に関する研究（第1報），動物（マウス，海猽，家兎，猿）接種試験に就て．日本医学及健保，No. 3319，244-247，1943．

8) Yaoi, H.: A summary of our studies on dengue. Yokohama Med. Bull., 9 (1), 1-20, 1958.

9) 石井，園田，小林，田中：荒川氏の分離した所謂伝貧病毒について．農林省家畜衛生試験場水曜会記事，3（3），10，1954．

10) Fortner, J. et Ulbrich, F.: Etat actuel de nos experiences sur la transmission de l'anémie infectieuse des équidés à des petits animaux d'experience. O.I.E. Bulletin, 42, 737-742, 1954.

11) 田淵，小林，山本：伝貧病毒分離についての荒川氏法追試験所見について．日本獣医学雑誌（学会号），16，42-43，1954．

12) 石井，田中：家畜伝染病診断学各論（文永堂発行），123-134，1958．

13) 石井，渡辺：健康馬並びに伝貧馬に於ける白血球像の消長について．獣疫調査所研究報告，13，1-75，1935．

Experimental studies on equine infectious anemia (Swamp Fever)
I. Re-transmission experiment of Arakawa's virus to horse

By Hidetake Yaoi, Akira Nagata, Nobumasa Goto and Katsue Saito

Yokohama University School of Medicine, Yokohama

Two strains of a virus, i. e., No. 1-and NO. 12-strains, which were adapted to mice by Arakawa and his collaborators from sera of horse infected with E. I. A. virus, were subjected to the present re-transmission experiment to horse.

Of the said 2 strains of virus, No. 1 was fixed to mice by intracerebral inoculation for 7 generations in 1950. And NO. 12 was fixed to mouse by 9 passages on CAM of fertile chick eggs and 2 intracerebral inoculation of mice in 1957.

To inoculate the horse with these strains of virus, 10% infectious mouse-brain-emulsion was prepared and centrifuged at 3,000 r.p.m. for 30 minutes, the supernate of which was used

Horse 1 was inoculated with 2,229 cc of the material subcutaneously and 110 cc (10-time-concentrated) intravenously. No. 1-strain was used in this case.

Horse 2 was inoculated with 1,508 cc subcutaneously and 12 cc intracutaneously. NO. 12-strain was used in this case.

Results were :—

Horse 1 showed a fever attack as high as 39.5°C after 16 days, accompanied by strong anemia.

Also the differential count of leucocytes showed similarities with E. I. A. in many points.

But, both siderocytes in peripheral blood and histopathologic changes in liver were negative.

Horse 2, which received NO. 12-strain showed a slight fever response after 15 days, followed by a slight anemia.

But, notable changes in leucocyte picture was not perceived, to say nothing of siderocytes. and histopathologic changes.

In addition, in performing C. F. T. using No. 1-strain as an antigen, serum from Horse 1 responded strongly and specifically, but serum from Horse 2 responded only very slightly.

馬伝染性貧血の実験的研究
第2報
A-ウイルス No. 1 株をもつてする中和及び感染防禦試験

横浜医科大学細菌学教室

矢追秀武，後藤宣政，佐野　眸，山沢涼子

ま え が き

吾々は荒川氏等の伝貧感染馬血清より分離したマウス固定毒2株，No. 1 株及び NO. 12 株（E_9M_2）の馬体復帰試験を行い，その成績は既に報告したが[1] 今回中和試験及び感染防禦試験 を も つて同ウイルス（特に No. 1 株）の特異性を検討し，若干の成績を得たので報告する.

実験材料及び実験方法

ウイルス材料としては荒川氏のマウス脳固定毒（No. 1 株），日本脳炎病毒中山株（予研より分与を受く），マウス脳脊髄膜炎病毒 GD Ⅶ 株（農林省家畜衞生試験場より分与を受く）及び教室保管のエクトロメリア病毒を使用した.

伝貧感染馬血清としては伝貧ウイルスを接種された120号，129号，131号馬の血清を使用し非伝貧健康馬血清としては喜界島の96号，97号，98号，99号，100号，101号馬の血清を使用した. 何れも農林省家畜衞生試験場より分与されたものである.

その他，予研より日本脳炎家兎免疫血清（中山株）の分与を受けた. 尚血清の非働化は60°C，20分の加温で行つた.

実 験 成 績

〔I〕 中 和 試 験

実施方法としては，小試験管に 0.3cc 宛の被検血清を分注し，A-ウイルスの各十進稀釈液（pH 7.4 の0.5% ゼラチン加生理的食塩水で稀釈す）0.3cc をそれぞれに加え，良く混和して 37°C の孵卵器内に2時間置き，更に 4°C の氷室内に一夜放置して 10～12g（各群数匹ずつ）のマウスに脳内接種し，2週間観察した上，対照群の力価と比較して中和対数及び中和指数を算出した.

対照群に於ては健康家兎血清を使用した. 尚，日本脳炎免疫血清での実験には血清，ウイルス混合液を 37°C の孵卵器内に2時間放置後，直ちにマウスに接種した.

実験 1： 非伝貧馬血清の中和試験

被検血清は喜界島の非伝貧健康馬血清である.

中和試験の結果は第1表の如く，夫々2， 5，3.2，6.3，3.2，8，の中和指数を示すが，恐らく正常抗体の域を脱しないものと考えられる. 因みにこの喜界島の血清は別の試験で A-ウイルス抗原との間に補体結合反応も成立しないことが判つた.

Table 1.

Neutralization test of A-virus (No. 1) with normal horse sera from Kikai-ga-Shima.

Dilution of virus / Serum of	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	LD_{50}	N. I. log	N. I.
Horse 96	5/5	4/5	3/5	0/5		$10^{-5.0}$	0.3	2
Horse 97	5/5	5/5	0/5	1/5		$10^{-4.6}$	0.7	5
Horse 98	5/5	5/5	2/5	0/5		$10^{-4.8}$	0.5	3.2
Horse 99	5/5	4/5	1/5	0/5		$10^{-4.5}$	0.8	6.3
Horse 100	5/5	5/5	2/5	0/5		$10^{-4.8}$	0.5	3.2
Horse 101	5/5	4/5	0/5	0/5		$10^{-4.4}$	0.9	8
Control (A-virus, No. 1)		5/5	3/5	1/5	0/5	$10^{-5.3}$		

実験 2： 伝貧感染馬血清の中和試験

第2表は120号馬血清の成績を示す．即ち病毒接種前（4/II，1957 採血）は N.I.＝10 で，病毒接種後に於ける発症前（19/II，採血）の血清は N.I.＝－1.3，更に発症直後（26/II 採血）の血清は N.I.＝0 である．

その後2回採血（4/III，及び 12/III，1957）して検査したが両回とも N.I.＝2.0 を示し僅かながら恢復が認められた．

斯くの如く，中和指数によれば中和抗体が発症に伴つて減少し，発作が収まるとまた産生されるという傾向がうかがわれる．

Table 2.

Neutralization test of A-virus (No. 1) with infected Horse 120's serum.

Dilution of virus / Serum of	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	LD_{50}	N. I. log	N. I.
Before inoculation 4/II '57	6/6	5/6	1/6	0/6	0/6		$10^{-4.5}$	1.0	10
Before fever attack 19/II '57		5/5	4/5	0/5	2/5		$10^{-5.6}$	−0.1	−1.3
Immed. after fever attack (39.8°C) 26/II '57	6/6	6/6	4/6	2/6	0/6		$10^{-5.5}$	0	0
After fever attack 4/III '57		5/5	3/5	0/5	0/5		$10^{-5.2}$	0.3	2
After fever attack 12/III '57		4/5	3/5	0/5	1/5		$10^{-5.2}$	0.3	2
Control (A-virus No. 1)			3/5	2/5	0/5	0/5	$10^{-5.5}$		

第3表は129号馬血清の中和試験の結果を示す．即ち病毒接種前（24/XI，1956 採血）は N.I.＝10 であるが，発症後（7/I，1957 採血）は N.I.＝3.2 となり，120号馬の場合と同じ傾向を

示す.

Table 3.

Neutralization test of A-virus (No. 1) with infected Horse 129's serum.

Dilution of virus / Serum of	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	LD_{50}	N. I. log	N. I.
Before inoculation 24/IX '56	7/7	7/7	6/7	4/7			$10^{-5.0}$	1.0	10
After fever attack 7/I '57	7/7	7/7	7/7	6/7			$10^{-5.5}$	0.5	3.2
Control (A-virus No. 1)			7/7	5/7	1/7	1/7	$10^{-6.0}$		

第4表は131号馬血清の成績であるが，病毒接種前血清（16/Ⅲ，1957 採血）は N.I.＝3.2 であり，発症直前（25/Ⅲ，採血）の血清は N.I.＝1.6，更に 40.3°C の熱発作時（28/Ⅲ）に採つた血清は N.I.＝1.6，体温が 39°C に下降したとき（1/Ⅳ）の血清は N.I.＝－1.6 を示す．

その後採つた2種の血清材料は夫々 3.2（8/Ⅳ，採血），1.6（15/Ⅳ 採血）の中和指数を示している．

Tale 4.

Neutralization test of A-virus (No. 1) with infected Horse 131's serum.

Dilution of virus / Serum of	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	LD_{50}	N. I. log	N. I.
Before inoculation 16/III '57	5/5	0/5	0/5	0/5		$10^{-4.5}$	0.5	3.2
Before fever attack 25/III '57	4/5	1/5	2/5	0/5		$10^{-4.8}$	0.2	1.6
Immed. after fever attack (40.3°C) 28/III '57	4/5	2/5	1/5	0/5		$10^{-4.8}$	0.2	1.6
Shortly after fever attack (39.0°C) 1/IV '57	5/5	3/5	0/5	0/5		$10^{-5.2}$	−0.2	−1.6
Convalescent stage 8/IV '57	5/5	0/5	0/5	0/5		$10^{-4.5}$	0.5	3.2
Convalescent stage 15/IV '57	5/5	1/5	0/5	1/5		$10^{-4.8}$	0.2	1.6
Control (A-virus No. 1)		2/5	1/5	0/5	0/5	$10^{-5.0}$		

以上の如く，3頭の伝貧病毒接種馬において，何れの場合も正常，特異の別を問わず兎に角若干は存在していた中和抗体が，発症すると一時減少乃至消失するという事実が，ここにA-ウイルスを指示子として示されている．かかる所見は若しA-ウイルスが伝貧に由来するものであるならば当然起り得ることであつて非常に好ましい所見ではあるが，中和抗体の量が何れの場合も正常抗体の程度であるから，少くともこれ丈で A-ウイルスを同定することは一応控えておく．しかし，この所見は伝貧という疾患が他の多くのウイルス性疾患と根本的に異り，感染乃至人工免疫の成立がすこぶる困難且つ不確実であり，就中中和抗体の産生がまだ確実に証明されていないことと相通ずるところがあるようにも見える．なおこれに関連して，後述の如く，A-ウイルスの不活化ワクチンで免疫した動物が他の多くのウイルスの場合に比しはるかに低い感染防禦力しか示さないことも興

味あることと思われる.

実験 3: 日脳免疫血清の中和試験

日脳中山株免疫血清及び中山株（マウス脳23代継代したもの）は共に予研リケチア，ウイルス部より分与されたものである.

家兎免疫血清の日脳ウイルスに対する中和指数は 3,200（第5表）である. しかるにA-ウイルス No. 1 株に対しては 1.6（第6表）であつて全く中和関係がないということが出来る. よつてA-ウイルス No. 1 株が日脳ウイルスと異るものであることは明らかである.

Table 5.

Neutralization test of J. B. E. virus with the same immune serum.

	Dilution of virus						LD_{50}	N. I. log	N. I.
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}			
J. B. E. immune serum and J. B. E. virus (Nakayama-strain)	2/5	0/4	0/4	0/4			$10^{-4.0}$	3.5	3,200
Control (Titer of Nakayama-strain)			3/3	3/4	1/4	0/4	$10^{-7.5}$		

Table 6.

Neutralization test of A-virus (No. 1) with J. B. E. virus immune serum.

	Dilution of virus					LD_{50}	N. I. log	N. I.
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}			
J. B. E. immune serum and A-virus (No. 1)	4/4	4/4	2/4	2/4		$10^{-5.5}$	0.2	1.6
Control Titer of A-virus (No. 1)		4/4	3/4	2/4	0/4	$10^{-5.7}$		

〔II〕 感 染 防 禦 試 験

A-ウイルス No. 1 株の Merzonin 不活化ワクチンで免疫したマウスと各種のウイルス（A-ウイルス No. 1, 日脳ウイルス, エクトロメリアウイルス, マウス脳脊髄膜炎ウイルス GD Ⅶ 株）を以て攻撃した.

Merzonin ワクチンは矢追[2)3)]等の狂犬病ワクチンの製法に準じて作つた. 即ち A-ウイルス No. 1株（感染マウス脳の10%乳剤）をマウスの脳内に接種し，充分発症した所で採脳し，食塩水（pH 7.4）にて 10% 乳剤を作り，Merzonin を 0.1% の割に加えて良く混和してから小瓶に分注して毎日数回振盪しつつ5日間 37°C の孵卵器内に置いて不活化した.

感染防禦試験は狂犬病ワクチンの Habel test[4)] に倣つて実施した.

即ち上述のワクチンを食塩水で20倍に稀釈（脳組織量；0.5%）して，その 0.25cc 宛を 10～12g のマウスの腹腔内に1日置きに6回注射し，最初の注射日より2週間後に各種ウイルスの稀釈液をもつて攻撃した（脳内接種による）. そして2週間観察の上，対照の各種ウイルスの毒力と比較して最小感染防禦価を算出した. 第7表はその結果を示す.

表示の如く，A-ウイルス No. 1 で攻撃した場合には最小感染量の10倍を防禦することが示されたが，他のウイルスの場合は感染防禦力の存在が全然示されなかつた.

これによつて A-ウイルス No. 1 株が少くとも日本脳炎，エクトロメリア，Theiler（GD Ⅶ 株）のウイルスと違うこと丈は明らかである.

Table 7.

Protection tests of mice immunized with Merzonin-inactivated A-virus.

Dilution of virus / Challenge virus	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	LD_{50}	LD_{50} of each control-group	Log. of MLD protective value	MLD protective value
A-virus (No. 1)	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4	1/4	$10^{-6.5}$	$10^{-7.5}$	1	10
J. B. E. virus	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	$10^{-7.5}$	$10^{-7.5}$	0	0
Ectromelia virus	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	1/4	$10^{-5.8}$	$10^{-5.8}$	0	0
Theiler GD Ⅶ virus	1/4	1/4	1/4	4/4	1/4	1/4	$10^{-6.7}$	$10^{-6.8}$	0.1	1.3

総　　　括

荒川及び協力者の幼若マウス脳内接種によつて伝貧馬血清より分離したマウス固定毒（A-ウイルス No. 1 株）を同定するためにマウスを用いて若干の中和試験と感染防禦試験を行い下記の結果を得た.

1） 別報記載の如く A-ウイルス抗原による補体結合反応が陰性であつた喜界島の非伝貧健康馬血清は今回の中和試験に於ても２～８倍という正常抗体の域を脱しない中和指数を示し，恐らく中和関係はないものとみとめられた.

2） 伝貧ウイルスを接種された患馬の血清と A-ウイルスとの間に関連性があるらしい所見を得たが，中和指数が全て余り小さく，少くともこの所見丈で A-ウイルスを同定することは無理だと考えられた.

3） A-ウイルス No. 1 株は日脳免疫血清（中山株）によつて中和されない.

4） A-ウイルスの Merzonin 不活化ワクチンで活動免疫されたマウスはA-ウイルスに対しては一定の感染防禦力を示したが，他の日本脳炎，エクトロメリア，マウス脳脊髄膜炎 GD Ⅶ の３ウイルスに対しては認むべき感染防禦力を示さなかつた.

謝辞：本出版につき御高配を忝くした田中北海道知事，金丸同総務部長，福岡農務部長に深謝する.

文　　　献

1） 矢追，永田，後藤，斉藤：馬伝染性貧血の実験的研究（第１報）：A-ウイルスの馬体接種成績. 北海道一馬伝染性貧血研究報告，第３報，61—69，1958.

2） Yaoi, H., Nakagami, S., Nakano, M. and Kondo, A: Studies on the rabies vaccine. Ist Rep.: Inactivation of the fixed rabies virus with Merzonin and heat. Japan. J. Exp. Med., 20 (3), 393-399, 1949.

3） Yaoi, H.: Recent advances in the preparation of anti-rabies vaccines: Inactivation of the viruses by Merzonin and heat. Yokohama Med. Bull., 4 (2), 97-119, 1953.

4） Habel, K.: Evaluation of a mouse protection test for the standardization of the immunizing power of anti-rabies vaccines. Publ. Health, Rep., 55, 1475-1487, 1940.

Experimental studies on equine infectious anemia (Swamp Fever)
II. Neutralization and protection tests with Arakawa's virus

By Hidetake Yaoi, Nobumasa Goto, Hitomi Sano and Ryoko Yamasawa

Yokohama University School of Medicine, Yokohama

Six specimens of normal horse serum from Kikai-ga-Shima (a small island near Kyushu), which proved of a negative C. F. T. test with Arakawa's virus (No. 1-strain) as the antigen were confirmed to be negative also in this neutralization test.

In 3 horses inoculated with E. I. A. virus definite fall and rise as regards the neutralizing antibodies were observed, in accordance with fever attack and convalescence, respectively.

But, the figures of N. I. seemed to be too small for identifying any viruses.

Arakawa's virus (No. 1-strain) was not neutralized by Japanese B encephalitis serum with N. I. of 3,200 to Nakayama-strain.

Furthermore, the mice immunized with Merzonin-inactivated virus (No. 1-strain) in the mea way as Habel test for anti-rabies vaccine, showed a definite resistance to the challenge swith No. 1-strain.

On the contrary, the mice immunized in the like manner showed not any resistance to Japanese B encephalitis virus, ectromelia virus and Theiler's virus (GD VII).

馬伝染性貧血の実験的研究
第3報
A-ウイルス No.1 株を抗原とする補体結合反応

横浜医科大学細菌学教室

矢追秀武，後藤宣政，永田　昭，山沢涼子

ま　え　が　き

吾々は荒川氏等のマウス固定毒（A-ウイルス）について既に2回報告[1)2)]したが，今回は特に伝貧感染馬の病毒血清で超免疫された家兎血清とA-ウイルスとの間に補体結合反応が成立したという同氏等の報告を検討した．即ちかかる事実の存在及びその特異性（診断的価値）について各種の血清材料を集めて討究し，若干の成績を得たので報告する．

実験材料と実験方法

1）抗原：Casals[3)4)]の凍結融解法に準じて作つた．即ち，A-ウイルス No. 1 株の 10% 脳乳剤（3,000 r.p.m., 30分の上清）をマウスの脳内に接種し，充分発症したところで頸動脈を切り放血致死せしめて採脳し，これに健康モルモット血清（60°C, 20分）を 2% に加えた 0.35% 滅菌食塩水（pH 7.0）を加え，ホモジナイザーにかけて 10% 乳剤となし，そのまま 4°C の氷室に一夜放置して 3,000 r.p.m., 30分遠心し，その上清を約 10 cc 宛，中試験管に分注し，ドライアイス及びメタノールで凍結10分間，次いで 37°C の温浴中にて融解10分間，これを5回くり返してから 5,000 r.p.m., 60分の遠心沈澱を行い，その上清に Merzonin を 0.01% の割合に加えて氷室に保存した．

本試験時の対照抗原は健康マウス脳を上述と全く同様に処置して作つた．

2）被検馬血清：農林省家畜衛生試験場より分与された伝貧感染馬血清及び喜界島非伝貧健康馬血清，フランスの Ramon 教授及び Verge 教授より分与された非伝貧健康馬血清及び伝貧感染馬血清並びに荒川助教授の A-ウイルス No. 1 株及び NO. 12 株（E_9M_2）接種馬の血清を供試した．全て60°C, 20分で非働化して用いた．

3）補体血清：5匹以上の健康モルモット血清を混合したもの．

4）赤血球浮游液：脱線維した緬羊血球を 2,000 r.p.m., 5分の遠心で滅菌食塩水（pH 7.0）で3回洗つた 3% 浮游液．

5）溶血素血清：緬羊血球で免疫した家兎血清．

以上の材料を以て予備試験を行つたところ，溶血素血清の最小溶血価は 1,500 倍及び 2,500 倍であつた（表略）．

抗原の抗補体作用はみられなかつた（表略）．抗原の溶血作用もみられなかつた（表略）．補体価は多くは第6～第8管が完全溶血を来たす程度である（表略）．

本試験はアメリカ陸軍々医学校法[5)]に準じて行い，抗原及び血清を稀釈する二次元法を採用した．

即ち，被検血清を倍数稀釈し，縦列に各稀釈液を 0.25 cc 宛入れた後，2 充単位/0.5 cc の補体を全試験管に加え，次いで倍数稀釈した抗原（0.25 cc 宛）を横列に加えてよく振盪する．

かくしてから 4°C の氷室に18時間放置し，翌日取り出して室温に 40～60 分間放置後溶血系統（3単位の溶血素血清液と当量の 3% 緬羊赤血球浮游液を混じたもの）を 0.5 cc 宛入れて再びよく振盪し，38°C の温浴中に30分間置いてから成績を判定した．

抗原対照（正常抗原）は二次元法により，血清対照は一次元法（抗原の代りに生理的食塩水 0.25 cc を入れた）に依つて検査した．

判定規準は下記の如くである．

4＋……完全不溶血，　3＋……25％ 溶血，

2＋……50％ 溶血，　1＋……75％ 溶血，

±……痕跡程度に血球が残り，殆んど溶血しているもの．

2＋以上を陽性とする．

実 験 成 績

実験 1：伝貧感染馬血清について

第1表に示す如く，伝貧感染馬血清（129号馬血清）は明らかに補体結合反応陽性である．

しかし，甚だ困つたことには第2表に示す如く，病毒接種前血清もこれに劣らず強く反応する．

Table 1.

Complement-fixation test of Horse 129's serum bled immediately after fever attack, using A-virus as antigen.

	Dilution of antigen	Dilution of serum					
		2×	4×	8×	16×	32×	64×
"A-virus" antigen	2×	4	4	2	1	–	–
	4×	4	4	1	–	–	–
	8×	4	3	2	–	–	–
	16×	3	2	1	–	–	–
	32×	3	–	–	–	–	–
	64×	1	–	–	–	–	–
Antigen control	2×	–	–	–	–		
	4×	–	–	–	–		
	8×	–	–	–	–		
	16×	–	–	–	–		
Serum control	NaCl	–	–	–			

Table 2.

Complement-fixation tests of infected horse serum, using A-virus as antigen.

Serum of	Date of bleeding	Dilution of antigen	A-virus antigen						Antigen control				Serum control		
			Dilution of serum												
			2×	4×	8×	16×	32×	64×	2×	4×	8×	16×	2×	4×	8×
Horse 120 before inoculation	4/II '57	2×	4	4	4	2	–	–	1	–	–	–	–	–	–
Horse 120 after inoculation	19/II '57	2×	4	4	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Horse 120 immediately after fever attack	26/II '57	2×	4	4	4	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–
Horse 129 before inoculation	24/XI '56	2×	4	4	3	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Horse 129 immediately after fever attack	7/I '57	2×	4	4	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

120 号馬血清に於ても同様の所見が得られた.

更に対照の目的で行つたオーストラリアより輸入された健康馬についても略々同程度の陽性反応が現われている.

以上の如く，A-ウイルス抗原と，伝貧感染馬血清との間に補体結合反応の成立することが判つた. しかし，それと同時に陰性であつて然るべき病毒接種前血清及び健康輸入馬血清が陽性反応を呈したので，A-ウイルスが正真正銘の馬伝貧ウイルスであると仮定すれば，不顕性感染の存在が推量される.

しかし，A-ウイルスが何れかのマウスウイルスに由来するものではないかということも考えられる.

そこで，最も考えられるマウスの脳脊髄膜炎ウイルス Theiler GD Ⅶ 株を抗原とする補体結合反応を試みると同時に，各種の健康動物血清及び非伝貧馬血清との間に於ける反応を検討して下記の成績を得た.

実験 2: 伝貧感染馬血清（129 号馬血清）と Theiler GD Ⅶ 株抗原との C.F.T.

第3表に示す如く，明らかに Theiler GD Ⅶ 株と伝貧感染馬血清との間には共通因子はないと判断される. 依つて A-ウイルスは Theiler GD Ⅶ 株ではない.

その他，A-ウイルスと鑑別すべきエクトロメリア，日本脳炎ウイルスに就いては既に感染防禦試験及び中和試験によつて，A-ウイルスと共通抗原が存在するとは考えられない成績を得ている[2].

Table 3.
Complement-fixation test of Horse 129's serum using Theiler's virus as antigen.

Serum of	Dilution of antigen	Theiler GD Ⅶ						Antigen control				Serum control		
		Dilution of serum												
		2×	4×	8×	16×	32×	64×	2×	4×	8×	16×	2×	4×	8×
Horse 129 before inoculation	2×	1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Horse 129 immed. after fever attack	2×	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

実験 3: 各種の健康動物血清について

第4表に成績を示す. 即ちオーストラリア輸入健康馬血清，健康緬羊血清，健康家兎血清，健康モルモット血清の中，オーストラリア輸入馬以外の動物血清は補体結合反応が成立しない.

Table 4.
Complement-fixation test of sera from normal laboratory animals using A-virus (No. 1) as antigen.

Serum of	Dilution of antigen	A-virus antigen						Antigen control				Serum control		
		Dilution of serum												
		2×	4×	8×	16×	32×	64×	2×	4×	8×	16×	2×	4×	8×
Sheep	2×	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Rabbit	2×	4	2	−	−	−	−	1	−	−	−	−	−	−
Guinea pig	2×	4	2	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Horse imported from Australia	2×	4	4	2	1	−	−	−	−	−	−	−	−	−

以上の対照実験によつて A-ウイルスが何か伝貧とは関係の無いものではあるまいかという疑問は聊か解消したが，偶々市川収博士の報告[6]にフランス及び喜界島の血清は Altara 抗原に対して陰性の反応を呈したといわれているのに示唆を得て，旧知の Ramon 教授に正常馬血清と伝貧感染馬血清の分与を乞うたところ速刻快諾を得，10月（1957）には正常馬血清 15 種類がとどけられ，更に 12 月末には伝貧発症直後の血清 1 種類が Verge 教授の手を経てとどけられた．

又，家畜衛生試験場よりは喜界島の健康馬血清（9 種類）の分与を受けることが出来た．これらの血清をもつて行つた実験成績は次項記載の如くである．

実験 4： 非伝貧健康馬血清について

（i） フランスの非伝貧健康馬血清

第 5 表に示す如く，フランスの健康馬血清 15 種類は例外なく陰性である．その中 No. 2030，No. 2036，No. 2066，No. 2067，No. 2068，などの血清は多少陽性の如くみえるが抗原対照との差が 1 管であり，問題にはならない．

又，No. 1051，No. 2056，No. 2061，No. 2069，等の場合には抗原対照の所で抗補体作用がみられ被検血清と A-ウイルス抗原との反応域を比較して差は認められない．

（ii） 喜界島の非伝貧健康馬血清

第 5 表に示す如く，喜界島の非伝貧健康馬血清は全て明瞭に陰性である．

喜界島馬の血液所見（検査日，17/VI，1955）．

No.	年　令	赤血球数（mm^3）	白血球数（mm^3）	SIDEROCYTE
98	1	846 万	7,000	陰　性
99	1	953 〃	7,000	〃
100	?	862 〃	10,800	〃
101	?	945 〃	13,600	〃
102	1	1,000 〃	7,600	〃
103	?	752 〃	9,400	〃
104	?	942 〃	7,600	〃
104	?	816 〃	7,400	〃
109	?	800 〃	7,800	〃

(iii) 健康木曾仔馬血清（木曾錦　生後 5 カ月）

第 5 表に示す如くこれ亦完全に陰性である．

以上の如く A-ウイルス抗原と 25種の非伝貧健康馬血清との間には補体結合反応は成立しない．

(iv) 〔対照〕フランスの伝貧感染馬血清

1957 年 12 月 28 日に Verge 教授よりとどいた熱発作時の血清を供試した．試験術式は前項と同じであり，只血清稀釈だけが僅かに異つている．成績は第 6 表の如くであつて，抗原対照で 1 管だけ抗補体作用がみとめられるが，両者を比較すれば明らかに差が認められ，フランスの伝貧感染馬血清とA-ウイルス No. 1 株との間に補体結合反応の成立することがわかつた．

実験 5： No. 1 株の馬体復帰実験血清（1 号馬）について

第 7 表に示す如く，A-ウイルス（No. 1 株）接種後 2 週間までは陰性であるが，22日後から初まつて，29日，32日，42日，と日が経つに従つて反応は次第に強くあらわれる．42日後には 2 ～ 4 倍

Table 5.

Complement-fixation test of normal horse sera using A-virus as antigen.

Horse serum	Dilution of antigen	A-virus antigen						Antigen control				Serum control		
		Dilution of serum												
		2×	4×	8×	16×	32×	64×	2×	4×	8×	16×	2×	4×	8×
France 1975	2 ×		1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2030	〃		3	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2036	〃		3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2051	〃		3	–	–	–	–	3	–	–	–	–	–	–
〃 2052	〃		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2053	〃		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2054	〃		1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2055	〃		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2056	〃		4	±	–	–	–	±	–	–	–	–	–	–
〃 2061	〃		3	±	–	–	–	2	–	–	–	–	–	–
〃 2062	〃		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2066	〃		3	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2067	〃		3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2068	〃		3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 2069	〃		4	±	–	–	–	±	–	–	–	–	–	–
Kikai-ga-Shima 98	4 ×	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 99	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 100	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 101	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 102	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 103	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 104	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 105	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
〃 109	〃	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Kisonishiki	4 ×		–	–	–	–	–		±	–	–		–	–

Table 6.

Complement-fixation test of an infectious horse serum from France using A-virus as antigen.

	Dilution of antigen	Dilution of serum				
		20 ×	25 ×	30 ×	40 ×	80 ×
A-virus antigen	2 ×	4	3	1	2	–
	4 ×	4	1	–	–	–
	8 ×	1	–	–	–	–
	16 ×	±	1	–	–	–
	32 ×	1	2	–	–	–
Antigen control	2 ×	3	–	–	–	–
	4 ×	±	–	–	–	–
	8 ×	–	–	–	–	–
	16 ×	–	–	–	–	–
Serum control	NaCl	–	–	–		

Table 7.

Complement-fixation test of sera from Horse 1 inoculated with A-virus (No. 1–strain) using A-virus (No. 1–strain) as antigen.

Serum bled after		Dilution of antigen	A-virus antigen						Antigen control				Serum control		
			Dilution of serum												
			10×	20×	40×	60×	80×	120×	10×	20×	40×	60×	10×	20×	40×
1	2 days	4 ×	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	8 〃	〃	4	4	–	–	–	–	3	1	–	–	–	–	–
3	14 〃	〃	4	4	±	–	–	–	4	3	–	–	–	–	–
4	22 〃	〃	4	4	1	±	–	–	3	–	–	–	–	–	–
5	25 〃	〃	4	3	±	–	–	–	2	–	–	–	–	–	–
6	29 〃	〃	4	4	2	1	–	–	1	–	–	–	–	–	–
7	32 〃	〃	4	4	3	2	1	–	±	–	–	–	–	–	–
8	42 〃	〃	4	4	3	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–
9	63 〃	〃	4	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	70 〃	〃	4	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	77 〃	〃	4	3	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	101 〃	〃	4	2	–	–	–	–	±	–	–	–	–	–	–
13	120 〃	〃	4	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
14	161 〃	〃	4	4	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

稀釈抗原で血清の倍稀釈まで陽性である.

しかし，63日後には2倍稀釈抗原では血清の40倍まで，4倍稀釈抗原では血清の20倍まで陽性で多少低下の傾向がある.

しかし，161日後でも未だ抗体が多少残存しているようである.

斯くの如く，A-ウイルス No. 1 株を接種された馬の血清は同じ株で作つた抗原に対して特異的に反応することが判つた. 加うるに接種後30～40日目に最高の陽性反応の場を示した.

実験 6：NO. 12株（E_9M_2）の馬体復帰実験血清（2号馬）について

成績は第8表に示す如くである.

この場合は32日後において初めて陽性反応がみとめられる. 即ち反応の出現が稍おくれるばかりではなく，その程度も極めて微弱である.

Table 8.

Complement-fixation test of sera from Horse 2 inoculated with A-virus (NO. 12 E_9M_2-strain) using A-virus (No. 1-strain) as antigen.

Serum bled before or after		Dilution of antigen	A-virus antigen						Antigen control				Serum control		
			Dilution of serum												
			10×	20×	40×	60×	80×	120×	10×	20×	40×	60×	10×	20×	40×
1	(before) inoculation	2 ×	1	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2	(after) 2 days	〃	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3	9 〃	〃	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
4	15 〃	〃	1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5	22 〃	〃	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
6	29 〃	〃	2	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
7	32 〃	〃	4	3	−	−	−	−	2	−	−	−	−	−	−
8	54 〃	〃	4	±	−	−	−	−	1	−	−	−	−	−	−
9	78 〃	〃	3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10	138 〃	〃	3	−	−	−	−	−	1	−	−	−	−	−	−

総　　　括

荒川氏等が伝貧感染馬血清材料よりマウス脳内接種7代で分離固定した病毒（A-ウイルス No. 1 株）から Casals の凍結融解法に依つて抗原を作製し，アメリカ陸軍々医学校法に準じて補体結合反応を試み下記の如き成績を得た.

1）伝貧感染馬血清と A-ウイルス抗原との間には補体結合反応が成立する.

2）伝貧感染馬血清とマウス脳脊髄膜炎ウイルス GD Ⅶ 株抗原との間には補体結合反応は成立しない.

3）健康緬羊血清，健康家兎血清，健康モルモット血清とウイルス抗原と A-ウイルス抗原との間には 補体結合反応は成立しない.

4）非伝貧健康馬血清25種と A-ウイルス抗原との間には補体結合反応は成立しない.

5）A-ウイルス No. 1 株を接種した馬（1号馬）の血清と本抗原との間には特異的補体結合反応が成立し，ウイルス接種後 30～40 日頃が最も強く反応した. その後漸減したが 160 日後におい

てもまだ若干の抗体が残存せる如き所見を得た.

6) 孵化鶏卵 CAM 通過9代及びマウス脳通過2代で固定された NO. 12 株 (E_9M_2) を接種した馬の血清（2号馬）と No. 1 株抗原との間にも補体結合反応は成立したが極めて微弱であつた.

この第1号馬及び第2号馬に於ける反応の相違は固定方法にもとづくウイルスの性状の相違によるものであるか，又，接種方法乃至量の相違に帰すべきものであるかに関しては不明である.

7) フランスの健康馬血清及び喜界島の健康馬血清の補体結合反応が陰性であつたという点で市川氏の Altara 抗原をもつてせる成績と吾々のA-ウイルス抗原をもつてした成績とが一致することは極めて興味深いことである.

謝　　　辞：

貴重なる血清材料を御分与下さつた Ramon 教授及び Verge 教授，小林場長及び石井進部長の御好意に対し深謝する.

本出版の御配慮を忝くした田中北海道知事，金丸総務部長，福岡武二農務部長及び道畜産課の各位に深謝する.

文　　　献

1) 矢追，永田，後藤，斉藤：馬伝染性貧血の実験的研究（第1報）：A-ウイルスの馬体接種成績．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第3報，61-69，1958.

2) 矢追，後藤，佐野，山沢：馬伝染性貧血の実験的研究（第2報）：A-ウイルス No. 1 株をもつてする中和試験及び感染防禦試験．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第3報，71-76，1958.

3) Casals, J.: Complement-fixation test for diagnosis of human viral encephalitides. J. Immunol., 56 (4), 337-341, 1947.

4) Casals, J.: Acetone-ether extracted antigen for complement fixation with certain neurotropic virus. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 70. (2), 339-343, 1946.

5) 伝研学友会編：アメリカ陸軍々医学校の法．細菌学実習提要，283-287，1953.

6) 市川収：馬の伝染性貧血における補体結合反応（イタリア法）の研究（特に Stockholm 発表以後の変遷とその後の研究推移について）．農林省家畜衛生試験場，1-108，1956.

Experimental studies on equine infectious anemia (Swamp Fever)
III. Complement fixation test using Arakawa's virus

By Hidetake Yaoi, Nobumasa Goto, Akira Nagata and Ryoko Yamasawa

Yokohama University School of Medicine, Yokohama

Antigen was prepared from No. 1-strain by freezing and thawing method.

Results were: —

1) Two sera from Horse 120 and Horse 129 inoculated with E. I. A. virus proved of positive C. F. T., but also the sera taken from same horses prior to inoculation showed existence of complement fixing antibodies.

2) However, the said sera did not respond to Theiler's virus (GD VII).

3) Also the normal sera from sheep, rabbit, guinea pig proved of negative C. F. T.

4) Fifteen serum specimens which were made available through the good offices of Prof. G. Ramon, and 9 specimens given by Gov. Exp. Station for Animal Hygiene, Tokyo, and one specimen from a foal (Kisonishiki by name, 5-month-old), i. e., total 25 normal horse sera were all proved of a completely negative complement fixing reaction to an antigen made of Arakawa's virus.

In nice contrast, a serum bled at fever attack of an infectious horse, which was kindly sent to us by Prof. J. Verge showed a strongly positive complement fixation reaction to the same antigen.

In this connection, it seems of great interest that our findings well accord with that of Dr. Ichikawa in the point that normal horse sera obtained from France and Kikai-ga-Shima showed negative C. F. to Altara's antigen.

5) Specific C. F. was observed in a horse serum inoculated with Arakawa's virus(No. 1 -strain), as a matter of course.

The maximum titer was reached after 30 to 40 days. But, even after 160 days some antibodies appeared still to remain.

Also the serum from another horse inoculated with Arakawa's virus NO. 12-strain(E_9M_2) had complement fixing antibodies but only very slightly.

馬伝染性貧血の実験的研究
第4報
A-ウイルス No. 1 株の pH 安定域 (pH-stability range) について

横浜医科大学細菌学教室

矢追秀武，後藤宣政，市川光一郎，山沢涼子

ま え が き

既報の如く吾々は荒川氏等のマウス固定毒（A-ウイルス）について討究し，第1報の馬体復帰試験では伝貧に一致する若干の所見を得[1]，第2報の中和試験及び感染防禦試験ではA-ウイルスが少くとも日本脳炎，Theiler GD Ⅶ，エクトロメリアの何れにても非ることを示し[2]，第3報の補体結合反応では同反応が A-ウイルスと正常馬血清との間には成立せず，伝貧感染馬血清との間には常に成立することを示した[3].

元よりA-ウイルスの同定にはなお多くの対照実験を必要とするが，ここで一応方向を転じて A-ウイルスそれ自体としての性状（免疫学的性状以外の）を新たに討究しようと考え，その第一歩として同ウイルスの pH 安定域を検べたところ下記の如き成績が得られた.

実験材料と実験方法

病毒材料としては A-ウイルス No.1 株を使用した．そして A-ウイルス No.1 株感染マウス脳乳剤（10%）を約200匹のマウスに脳内接種し充分発症したところで採脳，Homogenizer で磨砕，食塩水（pH 7.0）を加えて10%乳剤とし，その遠心上清（3,000 r.p.m., 30分）を試験病毒材料とした.

力価の検定には各十進稀釈を 10～13g のマウス5匹宛に接種し2週間観察した.

又，病毒の稀釈には特に Dulbecco の phosphate buffer saline（pH 7.4）を使用したがその作り方は下記の如くである.

（a） NaCl 8.0g，KCl 0.2g，$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 1.15g，KH_2PO_4 0.2g を蒸溜水 800cc に溶かし高圧滅菌後冷却する.

（b） $CaCl_2$ 0.1g を蒸溜水 100cc に溶かす.

（c） $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.1g を蒸溜水 100cc に溶かす．(b) と (c) を Seitz 濾過器で濾過して (a), (b), (c) 3者を無菌的に混合する.

メジウムの pH の調節は buffer をもつてしたが pH 2.0 より pH 8.0 までは McIlvaine の buffer（0.2M $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 及び 0.1M 枸櫞酸），pH 9.0 及び pH 10.0 は Sörensen の buffer（0.1M Glycine 及び 0.1n NaOH）を使用した．そこで上述の試験病毒材料を大試験管 10 本に夫々 54cc 宛入れ，これに pH 2.0 より pH 10.0までの buffer を 6cc 宛（9:1）加えた.

その一部（20cc）を他の試験管に移し，60°C, 30分の加温で不活化してから pH を測定し，これを目的の pH に修正するために要する n-HCl，及び n-NaOH の量を滴定して，残りの非加熱材料（40cc）に換算して加えた． pH の修正に要した酸及びアルカリ量は第1表の如くであつた.

なお，60°C, 30分の加熱は可検材料の pH に影響を与えないことを確めた.

Table 1.

Method for preparing virus suspensions of varying pH.

Virus suspension (cc)	Amounts of buffer (cc)	pH of buffer	Resultant pH	Amounts of acid and alkali needed for adjusting pH of virus suspension (40 cc)	
54	6	2	4.5	n HCl	2.6 cc
〃	〃	3	4.2	〃	0.6 cc
〃	〃	4	5.0	〃	0.4 cc
〃	〃	5	5.7	〃	0.18 cc
〃	〃	6	6.05	〃	0.06 cc
〃	〃	7	7.0	——	
〃	〃	7.5	7.1	n NaOH	0.06 cc
〃	〃	8	7.4	〃	0.14 cc
〃	〃	9	7.5	〃	0.26 cc
〃	〃	10	8.2	〃	0.54 cc

実験成績

前項記載の如くして調製した試験材料を 37°C の孵卵器内におさめて時々振盪した．

そして，6時間後或は48時間後に 20cc を取り，その大半（19.5cc）は 60°C，30分加温不活化して pH の測定に供し，残りの小部分（0.5cc）は力価検定に供した．

6時間後の所見：

第2表は pH 並びにウイルスの活性を示す．即ち pH 2.0 ではウイルスは完全に不活化しているが

Table 2.

Effects of pH on A-virus No. 1 (1). (Activities of the virus incubated at 37°C for 6 hours).

Initial pH	Final pH	Dilution of virus							LD_{50}
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	
2	1.8	0/1	0/5	0/5	0/4				$>10^{-4.5}$
3	2.8	5/5	5/5	5/5	5/5				$>10^{-4.5}$
4	3.6	5/5	5/5	5/5	5/5				$10^{-4.5}$
5	4.5		5/5	5/5	4/5	2/5	0/4		$10^{-4.7}$
6	5.7		5/5	5/5	4/5	5/5	0/4		$10^{-5.4}$
7	6.8				5/5	2/5	2/5	0/5	$10^{-5.2}$
7.5	7.0				5/5	5/5	3/5	0/5	$10^{-6.2}$
8	7.5				5/5	4/5	2/5	1/5	$10^{-5.8}$
9	8.2			5/5	5/5	4/5	1/5		$10^{-5.5}$
10	8.9		5/5	4/5	4/5	2/5			$10^{-4.5}$
Control (orig. virus suspension)					5/5	5/5	1/5	0/5	$10^{-5.6}$

N. B.: 1) Denominator : Number of mice inoculated.
2) Numerator : Number of mice died.

pH 3.0 では $LD_{50}=10^{-4.5}$ 以上を示し，pH 4.0 では $LD_{50}\geq 10^{-4.5}$，pH 5.0 では $LD_{50}=10^{-4.7}$，pH 6.0 では $LD_{50}=10^{-5.4}$，pH 7.0 では $LD_{50}=10^{-5.2}$ である.

pH 7.5 では $LD_{50}=10^{-6.2}$ で益々好適なることがみられ，pH 8.0 では $10^{-5.8}$ でこれ亦極めて至適 pH である.

しかるに pH 9.0 (pH 8.2) では $LD_{50}=10^{-5.5}$ でまだそれ程悪いとは思えないが，pH 10.0 (pH 8.9) では $LD_{50}=10^{-4.5}$ となり既に至適 pH の圏外にあることが分る.

以上の如く，37°C，6時間の所見では pH 7.0 より 8.0 までが大体至適 pH であることがうかがわれる.

48時間後の所見：

第3表は pH 並びにウイルスの活性を示す.

即ち pH 2.0 では勿論活性ウイルスをみとめないが pH 3.0 でも活性ウイルスをみとめない.

しかし，pH 4.0 では $LD_{50}=10^{-1.5}$ でなお若干の活性ウイルスが残つている.

pH 5.0 では $LD_{50}=10^{-3.0}$，pH 6.0 では $LD_{50}=10^{-3.8}$，pH 7.0 でも $LD_{50}=10^{-3.6}$ で大体同じ程度の活性ウイルスをみるが，pH 7.5 では $LD_{50}=10^{-5.4}$ で格段と多量の生ウイルスが残存し，次の pH 8.0 でも $LD_{50}=10^{-5.5}$ でこれに劣らない. これによつてみると A-ウイルスの至適 pH は pH 7.5～pH 8.0 であることが明らかである.

しかるに，pH 9.0 (pH 8.2) では $LD_{50}\geq 10^{-3.5}$，pH 10.0 (pH 8.3) では $LD_{50}=10^{-1.5}$ で，ウイルスの活性が著しく傷害される.

Table 3.

Effects of pH on A-virus No. 1 (2). (Activities of the virus incubated at 37°C for 48 hours).

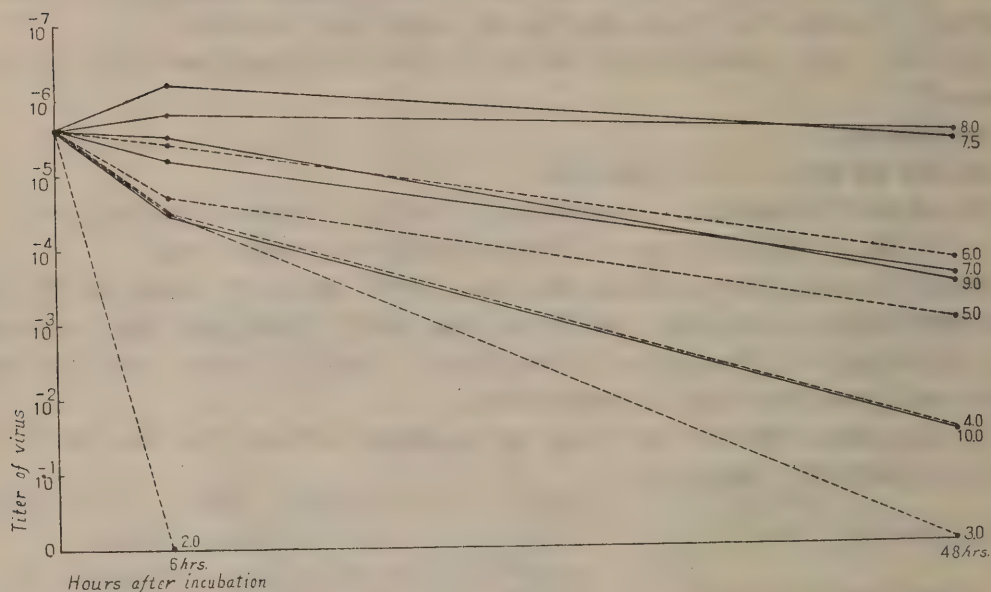
Initial pH	Final pH	Dilution of virus							LD_{50}
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	
2	2.1	0/5	0/5	0/5					0
3	2.6	0/5	0/5	0/5					0
4	3.9	4/4	0/5	0/5					$10^{-1.5}$
5	4.9	5/5	5/5	2/4					$10^{-3.0}$
6	6.0	5/5	5/5	5/5	2/5				$10^{-3.8}$
7	6.9	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5			$10^{-3.6}$
7.5	7.3	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5			$10^{-5.4}$
3	7.7	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5			$>10^{-5.5}$
9	8.2	5/5	5/5	5/5					$>10^{-3.5}$
10	8.3	4/5	1/5	0/4					$10^{-1.5}$
Control (orig. virus suspension)					5/5	5/5	1/5	0/5	$10^{-5.6}$

第1図は6時間後及び48時間後の成績を曲線で表わしたものであるが，ここではつきりみられるように A-ウイルスがその至適 pH たる pH 7.5～8.0 の下で6時間後に原の病毒材料よりも若干高い力価を示したことは興味あることである.

なお，本ウイルスは酸性側においても比較的安定であり，pH 3.0 でも少くとも 37°C，6時間後

までは比較的高い力価を保持している．これらの所見は本ウイルスの精製，或は保存などに役立つことと思われる．

Fig. 1.

Effects of pH on A-virus No. 1.

総　　　　括

1）荒川氏等のマウス固定毒（A-ウイルス No. 1 株）の 37°C における pH 安定域を検査した．

2）至適水素イオン濃度は pH 7.5〜8.0 である．

3）pH 2.0 では 6 時間以内に不活化するが pH 3.0 では 6 時間後でもなお可成りの活性を保つていた．

4）本ウイルスは酸性乃至アルカリ性に対して比較的強い抵抗力を有する．

謝辞：本出版につき特別の御配慮を忝くした田中北海道知事，金丸同総務部長，福岡農務部長及び同畜産課の各位に深謝する．

文　　　　献

1）矢追，永田，後藤，斉藤：馬伝染性貧血の実験的研究（第 1 報）：A-ウイルスの馬体接種成績．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第 3 報，61-69，1958．

2）矢追，後藤，佐野，山沢：馬伝染性貧血の実験的研究（第 2 報）：A-ウイルス No. 1 株をもつてする中和及び感染防禦試験．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第 3 報，71-76，1958．

3）矢追，後藤，永田，山沢：馬伝染性貧血の実験的研究（第 3 報）：A-ウイルス No. 1 株を抗原とする補体結合反応．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第 3 報，77-85，1958．

Experimental studies on equine infectious anemia (Swamp Fever)
IV. pH-stability range of Arakawa's virus

By Hidetake Yaoi, Nobumasa Goto, Koichiro Ichikawa
and Ryoko Yamasawa

Yokohama University School of Medicine, Yokohama

Influence of pH from 2.0 to 10.0 on Arakawa's virus (No. 1-strain) was examined at 37°C.

Results were: —

1) Optimal pH of this virus was in the ranges from pH 7.5 to pH 8.0.

2) The virus is relatively resistant to acid reaction: At pH 3.0, rather high titer was maintained at least up to 6 hours, but a complete inactivation of the virus was shown after 48 hours.

3) From results after 48 hours, following order as regards the beneficial effect of pH on the virus was found:—

pH (7.8, 8.0) > pH (6.6, 7.0, 9.0, 5.0) > pH (4.0, 10.0) > pH 3.0 > pH 2.0.

馬伝染性貧血の実験的研究
第5報
伝貧病毒のマウス脳内接種による分離実験

横浜医科大学細菌学教室

矢追秀武，後藤宣政，永田　昭

まえがき

吾々は荒川氏等[1)2)]によつて伝貧感染馬血清より分離されたマウス固定毒について検討し，且つ少からざる補遺を行つた[3)4)5)6)].

これによつて同マウス固定毒と伝貧との関係が一定度明らかになり，少くともその範囲がせばめられたと信ずる.

ひるがえつて，伝貧ウイルスの馬以外の動物への移植実験は田島[7)]の綜説に挙げられている丈でもすでに200以上あり，Dreguss and Lombard の綜説[8)]，その他のものを加うれば恐らく300を越すものがあろうと思われる.最近マウスの感受性を認めた報告が若干あらわれたが[8)9)10)],本ウイルスを分離し得たという報告は恐らく荒川氏等の幼若マウス脳内接種による分離以外にはなかるべく，本ウイルスの同法による分離固定の再現こそ追試者の最大任務であり，伝貧問題解決への最近道であるとも考えられる. しかもまだその目的を達し得ないのであるが,今日までの言わば失敗の成績を一応まとめて報告し，今後，更に伝貧ウイルスの分離という一線に向つて努力を集中したいと思う.

実験材料と実験方法

実験は1955年及び1957年の前後2回実施した.

実験 1 (1955):

材料は芝浦屠殺場から入手した伝貧患馬の血清である. そして伝貧と診断されたもののうちから成るべく定型的の熱発作をみた材料を撰んで使用した.

即ち発熱直後に採つた血清を40,000 r.p.m.,60分間超遠心し，その沈渣を原血清量の1/40～1/200（多くは 1/100）に当る 0.5% 膠加生理的食塩水に再浮游したものを接種材料とした.

実験動物は D.D. 系 6～7g の幼若マウスをもつてし，接種は全て脳内接種（0.03cc）によつた.

継代には発症（死亡を含む)，或は疑わしい症状を呈したマウスの脳をとり，20～30% の乳剤を作り，その 3,000 r.p.m., 10分間の遠心上清を使用した.

実験成績

12種類の伝貧感染馬血清についてウイルスの分離を試みた. その番号は芝浦屠殺場における屠殺番号である. 但し名のある馬は特にその名を付しておいた. 尚接種継代には毎常マウスを5匹宛使用した.

個々の成績は下の如くであつた.

1） No. 2 血清:

第1代の1匹が接種10日後に立毛，無気力，流涙（眼が潤む)，腹部緊張感（腹張感と略記する）の減退などの症状を呈したので第2代に移植する. 第2代は6日後に全部，立毛，無気力を呈したので第3代に移す. 7日後2匹が先と同じ症状を呈したので第4代に移した. しかし，4代目も，

更に第5代も無症状に終つた.

2) No. 4 血清:

8日後に初代の2匹が稍毛を立て眼の潤みをきたし，腹張感減退を示したので第2代に移す. そのうち3匹が7日後に疑わしい症状を呈したので第3代に移し，8日後に疑症状を呈した1匹から第4代に接種す. 3日後2匹が疑症状を呈し，4日後に1匹死んだが夏の夜中に死んだこととて継代を断念し，疑症状を呈した他の1匹より第5代に移す. その中2匹疑症状を呈しこれを第6代についだが全部無症状に終る.

3) No. 7 血清（第1回実施）:

初代の中1匹が4日後に死亡したので継代した. 第2代の4匹が疑症状を呈し，それを第3代に継いだが無症状に終る.

尚初代の残りの4匹のうち3匹疑症状を呈したが観察している中に常態にもどつた.

4) No. 7 血清（第2回実施）:

8日後に2匹疑症状，13日後に3匹死亡したのでこれを継代する. 第2代は無症状に経過したが10日後に第3代についだところ，やがて疑症状を呈してきたので10日後第4代につぐ. 14日後に1匹死亡したので第5代に移す. 4日後全マウスに疑症状を見たがそのまま待機しているうちに正常にもどつてしまう.

5) No. 14 血清:

初代は無症状，これを5日後に継代したが第2代も無症状に経過したので中止する.

6) No. 15 血清:

初代の1匹が3日後に過敏となり，10日後に1匹死亡，他の3匹も過敏症状を呈したので第2代に移したところ全部無症状. これを5日後第3代に移したが，これまた無症状に終る.

7) No. 55 血清:

この血清は 40.5°C の熱発作を示したときに採つた血清で，第1表に示す如く根気良く行つてみたが結局固定毒を得ることが出来なかつた.

A 一系列:

初代では3日後，2匹が立毛，眼潤み，無気力を示したが，4日後に1匹死亡（−40°C に保存），5日後に更に1匹死亡したので，両者を一緒にして，第2代に移す. 第2代の1匹は3日後に立毛，腹張感の減退を示して5日後に死亡したので，これを第3代に移す（A_1）.

更に7日後に2匹，8日後に1匹疑症状を呈したので，8日後に第4代に移した. 3匹疑症状を呈し，6日後に継代したが第5代も遂に無症状に終つた.

又先の第2代の残りの4匹は5日後に至つて立毛，無気力を示したので第3代に移した（A_2）. この第3代では全例が過敏（疑症状）になり，6日後に1匹死亡したので，5匹を合せて第4代に移す. 3日後に2匹立毛し，3匹過敏となる. 4日後に死亡したので，5匹合せて第5代に移した. 第5代では5日後3匹疑症状を呈し，6日後1匹死亡. 他の1匹は後肢の麻痺，立毛，立尾，眼潤み，腹張感減退などの症状を呈し，2匹は疑症状を呈したので第6代に移す.

第6代では5日後2匹が立毛，無気力を呈し，6日後に継代したが無症状，よつて6日後に第8代に移したが再び症状を呈せず遂に固定毒が得られなかつた.

B 一系列:

7日後及び9日後の両夜中に死んだマウスから採脳して継代した.

第2代で2日後に死んだものはこれを棄て，3日後に死んだものから第3代に移す（B）.

第3代は2日後2匹死亡し，そのうちの1匹を第4代に継ぐ（B_1）.

第4代では6日後1匹疑症状を呈し，直ちに第5代へ移したが遂に発症せず.

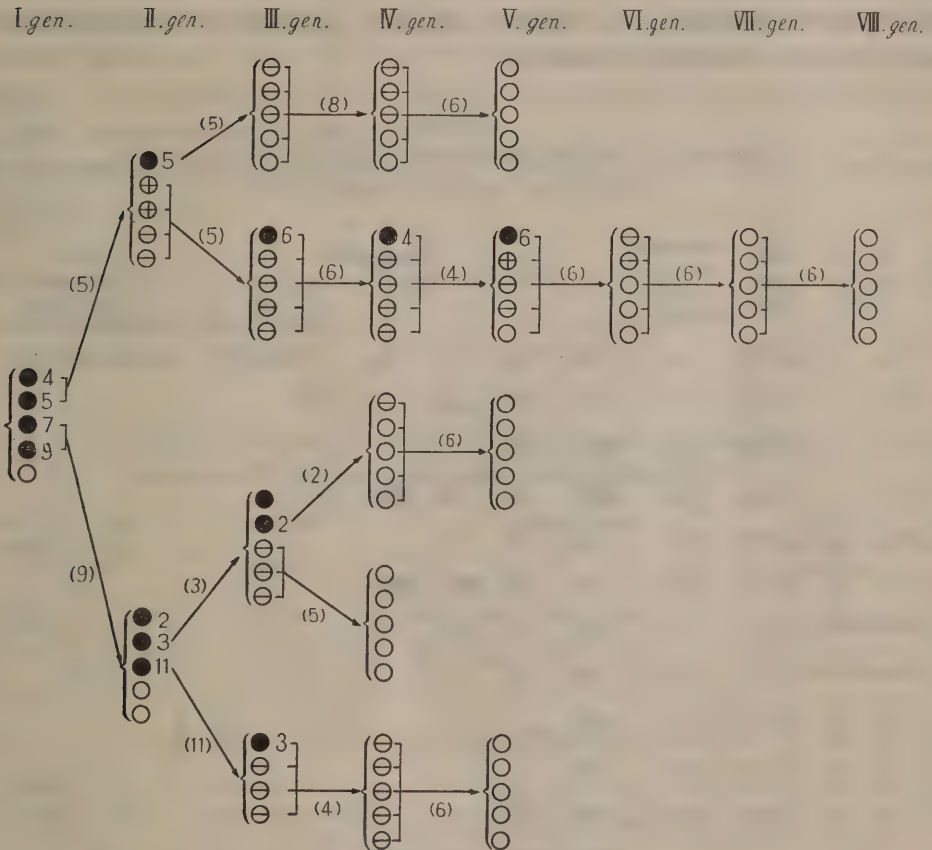
なお，第3代の残りの3匹は疑症状を呈し，5日後に第4代に移す（B_2）. 異状なく経過.

C 一系列：

Bの第２代に於て疑症状を呈していた１匹が11日後に死亡．これを第３代へ移す（C）．

３日後１匹死亡，他は疑症状を呈し４代につぐ．６日後全例疑症状を呈したので，第５代に移したが遂に目的を達せず．

Table 1.

Isolation experiment of E. I. A. virus from Horse 55's serum by mouse-intracerebral inoculation. (1955)

8) No. 72 血清：

初代で５日後２匹疑症状を呈し，７日後継代したが陰性に終る．

9) No. 135 血清：

初代，6日後疑症状，これを継代したが無症状に終る。

10） No. 215 血清：

感染馬の20％脾乳剤を3回凍結融解し，3,000 r.p.m., 30分の遠心上清と同馬の血清を等量に混合し，40,000 r.p.m., 60分超遠心，元量の1/100に濃縮して供試した（Streptomycin, Penicillin を加える）．5日間隔で，一括して継代したが第1，第2，第3代いずれも異状なく継代をあきらめる．

11） "智識" 血清：

初代の2匹が12日後疑症状を呈し，継代した．第2代中3匹が7日後疑症状を呈したので継代する（第3代）．4日後1匹疑症状を呈し再び継代したが異状なく経過（第4代）．

12） "巌泉" 血清：

初代の2匹が9日後疑症状を呈し，継代する（第2代）．2匹が4日後に同じく疑症状を呈し，これを第3代に移したが結局異常なく経過する．

Table 2.

A summary of isolation experiments of E. I. A. virus by mouse-intracerebral inoculation made in 1955.

No. of exp.	No. or name of horse	Date of start	Concent-ration time of material	Generations								No. of successful passage	Result
				1	2	3	4	5	6	7	8		
1	No. 2	23/VII	40×	+(10)	+(6)	+(7)	−(5)	−				3	+
2	No. 4	24/VII	100×	+(8)	±(7)	±(8)	±(4)	±(5)	−			1	−
3	No. 7	14/VIII	100×	●(4)	±(5)	−						1	−
4	No. 7	16/IX	100×	●(13)	−(10)	±(10)	●(14)	±→−				4	+
5	No. 215	17/VIII	100×	−(5)	−(5)	−(5)						0	−
6	No. 134	21/VIII	100×	±(7)	+(5)	●(17)	●(3)	−				4	+
7	TOMOSHIKI	25/IX	100×	±(12)	±(7)	±(4)	−					0	−
8	IWAIDZUMI	1/X	100×	±(9)	±(4)	−						0	−
9	No. 135	30/X	200×	±(6)	−							0	−
10	No. 14	31/XI	100×	−(5)	−							0	−
11	No. 15	6/XI	200×	±(10)	−(5)	−						0	−
12	No. 55	12/XI	200×	●(4) ●(5) ●(7) ●(9)	●(5) + ±(5) ●(3) ●(11)	±(8) ● ±(6) ●(2) ±(5) ● ±(4)	±(6) ● ±(4) ±(6) − ±(6)	− ● + ±(6) − −	± −(6)	−(6)	−	2 5 3 3 5	+
13	No. 72	14/XI	200×	±(6)	−							0	−

N. B.: (5) or (10); interval of transmission in day,
○ ; death,
\+ ; apparent symptom,
± ; dubious symptom,
− ; normal.

〔小　　　　括〕

以上を要するに，芝浦屠殺場から入手した伝貧感染馬血清材料12種をもつて行つたウイルス分離実験の結果は第2表に示す如くであつて，被接種マウスが若干の症状を呈し，或は死亡した場合だけを陽性とすると，1代陽性2例，3代陽性1例，4代陽性2例，5代陽性1例となる．

そこで3代以上陽性の場合を仮りに継代できたとしても12種の血清から僅か4例であり，荒川氏等の報告[1)2)]に見る如く，7種の血清より4株が僅かなマウス継代で完全に固定するに至つたという成績と較べると雲泥の差がある．

実験 2（1957）：

接種材料は農林省家畜衛生試験場及び伝研荒川研究室より分与された伝貧感染馬血清で，初代はそのままか或は濃縮したものを使用し，2代目からは概ねマウスの 20% 臓器乳剤（3,000 r.p.m., 10分の上清）を使用した．

実験動物としては前実験と同様 D.D. 系 6〜7g のマウスを使用したが，全ての場合，接種の2日前に 100r の全身照射を行つた（30r/m）．

接種は脳内接種（0.03cc），腹腔内接種（0.25cc），皮下接種（0.25cc）を以てし，継代は5日間隔で一括して行つた．

実　験　成　績

個々の成績は第3表の如くであつた．

1）129号感染馬血清（家衛試場）：

Table 3.

A summary of isolation experiments of E.I.A. virus from infectious horse sera by various routes, using mice, made in 1957.

No. of exp.	No. or name of horse	Date of start	Handling of material	Generations 1	2	3	4	5	6	No. of successful passage	Result
14	Horse 129	4/II	(I. C.)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−		0	−
			(I. P.)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−		0	−
15	Horse 120	8/III	I. gen. 17.2× II. gen. 25× III. gen. 25× (I. C.)	−(5)	−(14)	●(4)	●±(6)	±(5)	−	4	+
			I. gen. only 17.2× (I. C.)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	0	−
			I. gen. only 40× (I. P.)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	0	−
16	Horse 131	17/IV	I. gen. only 40× (I. C.)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)			0	−
17	Horse of Arakawa laboratory	6/V	(I. C.)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)	−(5)		0	−
			(S. C.)	−(30)						0	−
			I. gen. only 100× (I. C.)	−(5) ↗↘	●(5) −(5)	−(5) −(5)	−(5)			2 0	−

N.B.: (5) or (14); interval of transmission in days,
● ; death,
+ ; apparent symptom,
± ; dubious symptom,
− ; normal.

マウス脳の左右より血清をそのまま 0.03cc ずつ2回注射した.

そして5日毎に採脳してその 20% 脳乳剤を次代に移植し, 5代まで行つたが何等の所見も得られなかつた.

更に同じ血清 0.25cc 宛をマウスに腹腔内注射し, 5日毎に肝, 脾, 血液の 20% 混合乳剤0.25cc 宛腹腔内接種し同じく5代まで継代したが第3表に示す如くこれまた陰性に終つた.

2) 120号感染馬血清（家衛試場）:

第3表或は第4表に示す如く稍興味ある成績が得られた. 但しこの際は血清を先ず13,000r.p.m., 30分遠心し, その上清を再び 38,000r.p.m., 60分超遠心して 17.2 倍濃縮し, これに Penicillin 5,000 単位/cc, Streptomycin 500γ/cc の割に加えて10匹のマウスに脳内接種した. しかし初代では所見を得ず, 5日後にこれらのマウスの脳をとり, 10% 乳剤とし, 4,500r.p.m., 45分遠心し, その上清を再び 38,000r.p.m., 60分超遠心して25倍濃縮してこれに超音波を3分間かけ（100〜110V., 15mA, 560k.c.), 0.03cc 宛10匹のマウスに脳内接種した.

2代目も異常を示さなかつたので5日後に再び接種し, 10% 乳剤を作り, 上記と同様の方法で25倍濃縮したものを10匹のマウスに脳内接種したところ, 3日後の朝1匹死亡していたが既に脳の軟化が稍強度であつたので断念した. 翌日3匹死亡したので, 他の一見正常のものも同時に殺して20%脳乳剤を作り, 第4代に継代した. 2日後1匹死亡したが継代せず. 4日後頃より残り4匹のうち3匹が若干症状を呈してきたので接種後6日目に 20% 脳乳剤を作つて第5代に移した.

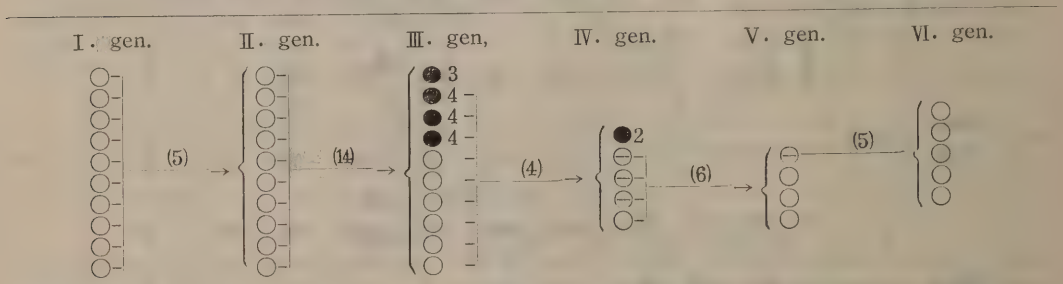
第5代では4匹中1匹が5日後稍疑わしく（食慾減退, 無気力, 腹張感の減退など）思われたので, これのみ採脳継代したが, その後は症状を呈したマウスはなかつた.

以上の記載を図示すると第4表の如くである.

更に同じ 17.2 倍濃縮血清を脳内及び腹腔内に注射してウイルス分離を企てた（第3表).

但し2代目以後は 20% 脳乳剤（0.03cc）或は 20% 肝, 脾混合乳剤（0.25cc）を継代材料として6代まで行つたが陰性に終つた.

Table 4.

Isolation experiment of E.I.A. virus from Horse 120's serum by mouse-intracerebral inoculation, using concentrated virus material up to 3rd generation (17.2〜25×).

N.B.: (5) or (4); interval of transmission in days,

● ; death,

⊕ ; apparent symptom,

⊖ ; dubious symptom,

○ ; normal.

3) 131号感染馬血清（家衛試場）:

血清を 38,000r.p.m., 60分間超遠心し 1/40 に濃縮して脳内接種した. その後は5日目毎に 20% 脳乳剤の遠心上清（3,000r.p.m., 5分間）で4代継代したが, 各代とも無症状で陰性に終つた.

4) 伝研荒川研究室の感染馬血清:

23/Ⅲ, '57 に採つた血清材料をマウス脳に接種し，2代目より 20% 脳乳剤を継代材料として5代まで行つたが陰性の結果に終つた．

25/Ⅲ, '57 及び 27/Ⅲ, '57 の両日に採つた血清をそれぞれ5匹のマウスの大腿皮下に 0.25cc宛注射し，4週間観察を行つたが変化はみとめなかつた．

27/Ⅲ, '57 に採つた血清を 40,000r.p.m., 60分超遠心して 1/100 に濃縮し，脳内接種で分離を試みたが第3表に示す如く，第2代で5日後に1匹死亡した．これから 20% 脳乳剤を作り，3代に移植したが異状がなく，更に4代に継代したがこれ亦陰性に終つた．

第2代の残りの4匹からも継代したが陰性に終つた．

〔小　　　　括〕

以上の如く，本実験では家畜衛生試験場（3種），並びに荒川研究室（1種）より分与をうけた4種の伝貧感染馬血清材料を供試し，接種は脳内，皮下，腹腔に試みた．その上，X-線の全身照射によつてマウスの抵抗力の低下をはかつたが，4材料から4代継代1例，2代継代1例を得たのみで前回と同じく3代以上陽性の場合を継代出来たとすれば，4種の材料から只1例であり，再び頗る悲観的な成績しか得られなかつた．

総　　　　括

荒川，兼子，関，武藤（1952）の幼若マウスの脳内接種によつて伝貧病毒が容易に分離出来たという劃期的報告に対しては既に石井，園田，小林，田中(1954)[11]；Fortner et Ulbrich（1954)[12]；田淵，小林，山本（1954)[13] の追試々験があるがいずれも否定的である．

吾々は 1955 年及び 1957 年の両回にわたつて本追試々験を行つた．

実験1 においては芝浦屠殺場より入手した12種の伝貧病馬血清材料を供試し，これを初回接種に限つておおむね100倍濃縮（40～200倍）して，6～7g の D.D. 系マウスに脳内接種した．継代には 20% 脳乳剤の 3,000r.p.m., 10分遠心上清を同じく脳内接種した．

かくして，若干の症状乃至死亡を目標とし，主として待機法（3～17日）によつて継代したが，1代のみ陽性2例，3代陽性1例，4代陽性2例，5代陽性1例という成績を得た．

実験2 に於ては農林省家畜衛生試験場の感染馬血清（120号，129号，131号）及び荒川研究室の感染馬血清1種を供試した．しかも今回は接種2日前に 100r の X-線全身照射を加えてマウスの抵抗力の低下をはかつた．

接種は脳内（0.03cc），腹腔（0.25cc），皮下（0.25cc）に試み，5日毎に一括継代した．その結果として：

（1） 120号馬血清では各継代に濃縮材料（17～25倍）を脳内接種して4代まで継代し得たが，それ以上は遂に失敗した．

又初代だけ濃縮（17倍）して脳内又は腹腔内注射で夫々6代継代した場合も陰性に終る．

（2） 129号馬血清では，脳内又は腹腔内接種で夫々4代まで継代を行つたが陰性に終る．

（3） 131号馬血清では初代だけ濃縮材料（40倍）を使用し，夫々4代まで継代を行つたがこれ亦陰性に終る．

（4） 荒川研究室の血清では脳内接種で5代継代して陰性；皮下注射して30日間観察して無症状に経過；初代に100倍濃縮材料を脳内接種した場合には2代まで成功したが，これまた失敗に終る．

以上の如く，今回は X-線の全身照射によつてマウスの抵抗力の低下をはかり，且つ接種も脳内のみでなく，腹腔，皮下にも試みたが結果は前実験の場合と異らず，4種の材料より4代陽性1例及び2代陽性1例を得たのに過ぎなかつた．

以上を総括するに，吾々は全部で16種の伝貧感染馬血清材料を供試し，主として脳内接種によつて継代，病毒の分離を試みたが遂にその目的を達することが出来なかつた．

3代或はそれ以上継代出来たのは16血清より僅か5例であり，荒川氏等の如く7血清のうち4例も比較的僅少な継代でウイルスがマウスに固定するに至つたという成績に較ぶれば正に雲泥の差であつて全く問題にならない.

結　　論

16種の伝貧感染馬血清を使用して同ウイルスの分離を試みたが，症状乃至死亡によつて3代以上（5代まで）継代し得たと思われる例が16種の材料から5例得られたのに過ぎず，況んや固定毒化に於てをやであつた.

この点に於て石井，園田，小林，田中（1954）；Fortner et Ulbrich（1954）：及び田淵，小林，山本（1954）の諸家の報告と一致する.

謝辞：本出版につき特別の御配慮を忝くした田中北海道知事，金丸総務部長，福岡農務部長及び道畜産課の各位に深謝する.

文　　献

1) 荒川，兼子，関武，武藤：馬伝染性貧血に関する実験的研究（第1報）．病毒をマウス脳等に分離固定することについて．生体の科学，4 (3)，143-144，1952.

2) Arakawa, S., Kaneko, T., Seki, T., and Muto, S.: Experimentelle Studien über das Virus der infektiösen Anämie der Pferde. I. Mit.: Isolierung und Fixierung des Virus in weissen Mäusen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift. H. 6, 40 Jahrg., 321-326, 1953.

3) 矢追，永田，後藤，斉藤：馬伝染性貧血の実験的研究（第1報）：A-ウイルスの馬体接種成績．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第3報，61-69 1958.

4) 矢追，後藤，佐野，山沢：馬伝染性貧血の実験的研究（第2報）：A-ウイルス No. 1 株をもつてする中和試験及び感染防禦試験．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第3報，71-76，1958.

5) 矢追，後藤，永田，山沢：馬伝染性貧血の実験的研究（第3報）：A-ウイルス No. 1 株を抗原とする補体結合反応．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第3報，77-85，1958.

6) 矢追，後藤，市川，山沢：馬伝染性貧血の実験的研究（第4報）：A-ウイルス No. 1 株の pH 安定域について．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第3報，87-91，1958.

7) 田島：葛西勝弥（監修），馬の伝染性貧血．上，下．1949（養賢堂発行）.

8) Dreguss, M. N. and Lombard, L. S.: Experimental studies in equine infectious anemia. University of Pennsylvania Press, (Philadelphia), 1954.

9) Hallauer, C. und Moosbrugger, G. A.: Untersuchungen über das Virus der infektiösen Anämie der Pferde. Schweiz. Arch. Tierh., 91, 28, 1949.

10) 山極，大島，藤本，大林，小野(威)，佐藤，北山，中松，小野：馬の伝染性貧血に関する実験病理学研究 I．伝貧馬内腸骨淋乳剤上清を以てする接種マウスの血液学的並びに病理組織学的研究．北海道一馬伝染性貧血研究報告，第2報，81-83，1957.

11) 石井，園田，小林，田中：荒川氏の分離した所謂伝貧病毒について．水曜会記事，3 (3)，10，1954.

12) Fortner, J. et Ulbrich, F.: Etat actuel de nos experiences sur la transmission de l'anémie infectieuse des équidés à des petits animaux d'experience. O. I. E. Bulletin, 42, 737-742, 1954.

13) 田淵，小林，山本：伝貧病毒分離についての荒川氏法追試所見について．日本獣医学雑誌（学会号），16，42-43，1954.

Experimental studies on equine infectious anemia (Swamp Fever)
V. Isolation experiment of equine infectious anemia virus by mouse-intracerebral inoculation

By Hidetake Yaoi, Nobumasa Goto and Akira Nagata
Yokohama University School of Medicine, Yokohama

Exp. 1 (1955):

For inoculation, infectious horse sera from Shibaura slaughter-house were used. These sera were first concentrated 40 to 200 times, 100 times in most cases, and inoculated into D.D. mice weighing 6 to 7 g.

Passage was made with supernate (centrifuged at 3,000 r.p.m., for 10 minutes) of 20% brain emulsion of infectious mouse.

The transmission was made in accordance with symptom or death in mice at intervals from 3 to 17 days after inoculation.

And such results were obtained as infections were positive in 2 cases at 1st generation, in one case at 2nd generation, in 2 cases at 4th generation, and in one case at 5th generation.

Thus, even if granting the passage was successful with positive response through 3 generations, the positive case would be only 4 out of 12 sera used.

There is indeed a great difference between the results of Arakawa et al. and ours: Arakawa et al. reported in 1952 that they could isolate 4 strains using 7 sera from infectious horses.

Exp. 2 (1957):

Three sera of experimental horses obtained from Gov. Exp. Station for Animal Hygiene, and one serum from Arakawa's laboratory were used for the purpose.

At this time, all the mice used received the whole-body X-irradiation of 100r, 2 days prior to inoculation of virus material.

And, inoculation was made by intracerebral (0.03 cc), intraperitoneal (0.25 cc), and subcutaneous routes (0.25 cc), using a pool of brains at 5-day-interval.

The results were: —

1) In case of Horse 120's serum, transmission was successful up to 4th generation using 17-25 times concentrated materials.

And, in case of transmission through 6 generations, in which first generation only was inoculated with 17-time-concentrated material, either by intracerebral or intraperitoneal route it resulted in entirely negative.

2) With Horse 129's serum, passage was made through 4 generations by intracerebral route and intraperitoneal route, respectively, to obtain completely negative results.

3) With Horse 131's serum, only the first intracerebral inoculation was made with 40-time-concentrated material and transmitted up to 4th generation to obtain again negative result.

4) With a horse serum from Arakawa's laboratory, when it was passed through 5 generations by intracerebral route, using unconcentrated material, a completely negative

result was obtained.

And, 10 mice which received subcutaneously the same virus material were observed for 30 days without detecting any noticeable signs.

And, when 100-time-concentrated material was given intraperitoneally only to 1st generation, 2nd generation was positive but further generations failed to develop any symptoms.

As stated above, despite of an additional efforts to lower the resistance of mice by the previous treatment like X-irradiation, of the 4 serum specimens, only one successful transmission through 4 generations was achieved, not to speak of fixation of the virus to mice.

On this point, our experimental results agree with those reported by Fortner et Ulbrich; Ishii, Sonoda & Tanaka; Tabuchi, Kobayashi & Yamamoto.

馬伝染性貧血研究

（第 三 報）

昭和33年5月発行

編集人
兼　　　北 海 道 農 務 部
発行人

印刷所　　氏野プリント社

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH
SHIBA SHIROKANE-DAIMACHI, MINATO-KU, TOKYO.

Review on

"Equine Infectious Anemia"

by

Katuya KASAI
and
15 Contributors

Prepared by Dr. Tajima

Koji Saito

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH
SHIBA SHIROKANE-DAIMACHI, MINATO-KU, TOKYO.

" Equine Infectious Anemia "

by

Katuya KASAI

and

15 Contributors

Equine Infectious Anemia

By Katuya KASAI (editor) and 15 contributors.
Vol. I. Pp. vi+264, Vol. II. Pp. v+172. Tokyo : Ministry of Agriculture & Forestry, Livestock Bureau. Yokendo Inc. (In Japanese).

This monograph is a critical review on the reports on equine infectious anemia which appeared in the world from the time of its first recognition as an independent disease up to the present time. All reports concerning are involved under 17 chapters being abstracted, criticized together with the references cited in the original reports.

This book will be the most complete and up-to-date monograph on equine infectious anemia.

History of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 3-10)

Kasai, K. summarized the history of equine infectious anemia (E.I.A.) treating of the following topics : I. History before the confirmation of the cause of this disease, II. The discovery of the causative virus by Vallée and Carré, III. Proposition of others than virus as a causative agent, IV. History of E.I.A. in each country especially in Japan. (71 References).

Equine Infectious Anemia

By Katuya KASAI (editor) and 15 contributors.

Vol. I. Pp. vi+264, Vol. II. Pp. v+172. Tokyo : Ministry of Agriculture & Forestry, Livestock Bureau. Yokendo Inc. (In Japanese).

This monograph is a critical review on the reports on equine infectious anemia which appeared in the world from the time of its first recognition as an independent disease up to the present time. All reports concerning are involved under 17 chapters being abstracted, criticized together with the references cited in the original reports.

This book will be the most complete and up-to-date monograph on equine infectious anemia.

History of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 3-10)

Kasai, K. summarized the history of equine infectious anemia (E.I.A.) treating of the following topics : I. History before the confirmation of the cause of this disease, II. The discovery of the causative virus by Vallée and Carré, III. Proposition of others than virus as a causative agent, IV. History of E.I.A. in each country especially in Japan. (71 References).

Etiology of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 11-28)

Hirato, K. reviewed advances in the investigations on the virus of infectious anemia referencing 108 reports. It consists of the following five main items.

1. Historical review of the investigations to determine the causative agent; 2. Biological characters : culture, histiotropism and localization, increase of pathogenicity, the relation of pathogenicity to the form of the disease, variability of pathogenicity of the virus; 3. Physical and chemical properties of the virus : ultrafiltration, salting out and dialysis, electrical charge, adsorption; 4. Discussion on the entity of the virus; 5. Ovine infectious anemia : the relationship between the ovine and equine viruses, etc.

Resistance of the Infectious Anemia Virus

(Vol. I, Pp. 29-41)

Miura, S. summarized 61 articles on the resistance of equine infectious anemia virus against the physical and chemical agents such as heat, cold, freezing, sun light, desiccation, lyophilization, storage, ultraviolet ray, exposure in the outdoor air, putrification, phenol, formalin, sublimate, glycerol, bile, bile salt, chlorine gas, merthiolate, aniline dyes and other organic or inorganic substances alone or in conjunction with some

Etiology of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, P. 11-28)

Hirato, K. reviewed advances in the investigations on the virus of infectious anemia referencing 108 reports. It consists of the following five main items.

1. Historical review of the investigations to determine the causative agent; 2. Biological characters : culture, histiotropism and localization, increase of pathogenicity, the relation of pathogenicity to the form of the disease, variability of pathogenicity of the virus; 3. Physical and chemical properties of the virus : ultrafiltration, salting out and dialysis, electrical charge, adsorption; 4. Discussion on the entity of the virus; 5. Ovine infectious anemia : the relationship between the ovine and equine viruses, etc.

Resistance of the Infectious Anemia Virus

(Vol. I, P. 29-41)

Miura, S. summarized 61 articles on the resistance of equine infectious anemia virus against the physical and chemical agents such as heat, cold, freezing, sun light, desiccation, lyophilization, storage, ultraviolet ray, exposure in the outdoor air, putrification, phenol, formalin, sublimate, glycerol, bile, bile salt, chlorine gas, merthiolate, aniline dyes and other organic or inorganic substances alone or in conjunction with some

~~of them. It is well known that the anemia virus resists strongly against the physical or chemical agents so far as understood up to present.~~

In Japan ~~a striking~~ interest ~~on~~ the resistance of this virus ~~made researchers~~ direct ~~their~~ attentions to finding some simple method ~~to~~ inactivate the virus present in immune serum without impairing the immune bodies therein. ~~Through the effort of Japanese researchers~~ (Kasai et al.) ~~it was clarified~~ that the ~~anemia~~ virus contained in serum to which ~~the~~ carbolic acid had been added to a concentration of 0.5 % remained sometimes ~~still~~ active for ~~2 days~~ (48 hours) ~~by the~~ incubation at 37°C., but it was ~~perfectly~~ inactivated ~~by the end of 3 days~~ (72 hours). However, they concluded that ~~in order to expect~~ complete inactivation of the virus contained in the serum it should be safe to keep the carbolized serum ~~in incubator~~ (37° C.) for ~~a period of~~ 5 days.

~~Susceptibility of Animals other than Solipeds to the Infectious Anemia Virus~~

~~(Vol. I, Pp. 43-82)~~

Reviewing ~~those works of experimental infections attempted with infectious anemia virus on various~~ species ~~of animals Tajima, Y.~~ ~~relates his own opinions.~~

According to the reviewer, despite of numerous species of animal such as ~~the~~ cattle, pig, sheep, goat, monkey,

of them. It is well known that the anemia virus resists strongly against the physical or chemical agents so far as understood up to present.

In Japan a striking interest on the resistance of this virus made researchers direct their attention to finding some simple method to inactivate the virus present in immune serum without impairing the immune bodies therein. Through the effort of Japanese researchers (Kasai et al.) it was clarified that the anemia virus contained in serum to which the carbolic acid had been added to a concentration of 0.5 % remained sometimes still active for 2 days (48 hours) by the incubation at 37°C, but it was perfectly inactivated by the end of 3 days (72 hours). However, they concluded that in order to expect complete inactivation of the virus contained in the serum it should be safe to keep the carbolized serum in incubator (37° C.) for a period of 5 days.

Susceptibility of Animals other than Solipeds to the Infectious Anemia Virus

(Vol. I, P. 43-82)

Reviewing those works of experimental infections attempted with infectious anemia virus on various species of animals Tajima relates his own opinions.

According to the reviewer, despite of numerous species of animal such as the cattle, pig, sheep, goat, monkey,

dog, cat, rabbit, ferret, guinea-pig, rat, mouse, chicken, pigeon, hedgehog, sparrow and frog used in the experimental infection, the only animal found with definite susceptibility was the pig and even this was of a slight susceptibility.

Regarding the other animals, the reviewer says, they were found either with no susceptibility or with suscepti-bility, so claimed by the investigators, of questionable value on account of th deficiency in their experiments which was mainly caused by not providing a confirmatory test to infect horses (in case the confirmatory test is negative, latent infection of the animal must be followed up).

Thus, the reviewer insists on the necessity of providing a horse confirmatory test without which all animal experiments are of small or negligible value.

Diagnosis by Provocation of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 83-88)

After introducing 32 reports, Soekawa, M. and Nishi, T. concluded that it is questionable to diagnose the subclinical E.I.A. horses by a single provocational method because the nature designated as subclinically affected horses is very different.

This chapter consists of the following contents :

I. Compulsory muscle work, II. Bleeding, III. Injection

dog, cat, rabbit, ferret, guinea pig, rat, mouse, chicken, pigeon, hedgehog, sparrow and frog used in the experimental infection, the only animal found with definite susceptibility was the pig and even this was of a slight susceptibility.

Regarding the other animals, the reviewer says, they were found either with no susceptibility or with susceptibility, so claimed by the investigators, of questionable value on account of th deficiency in their experiments which was mainly caused by not providing a confirmatory test to infect horses (in case the confirmatory test is negative, latent infection of the animal must be followed up).

Thus, the reviewer insists on the necessity of providing a horse confirmatory test without which all animal experiments are of small or negligible value.

Diagnosis by Provocation of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 83-88)

After introducing 32 reports, Sookawa M. and Nishi F. concluded that it is questionable to diagnose the subclinical E.I.A. horses by a single provocational method because the nature designated as subclinically effected horses is very different.

This chapter consists of the following contents :

1. Compulsory muscle work, II. Bleeding, III. Injection

of heterologous protein, IV. Tuberculin injection, V. Injection of the drugs, VI. Injection of living bacteria, and VII. Conclusion.

The reviewer selected two following Japanese studies. Hashimoto, Saijo and Yajima (1934) reported that they could provocate fever in 60 % of the subclinically infected horses by the subcutaneous injection of 10 % NaCl solution (200 cc) containing gelatin in 10 %.

Ishii and Watanabe (1935) had reported that they could provocate fever and anemia in high percentage in subclinically infected horses by the intravenous injection of acetyl-phenyl-hydrazine(0.015g. per kilogram body weight).

Immunological Diagnosis of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 89-97)

After surveying 53 references, Soekawa, M. and Nishi, K. failed to find even a single method applicable for the practical purposes and they concluded that the existence or the absence of antibody production in E.I.A. would be decided when the method of purification or concentration of the antigen was improved following the progress in the study about the virus itself.

This chapter consists of the following contents :
I. Complement-fixation reaction, II. Precipitation

of heterologous protein, IV. Tuberculin injection, V. Injection of the drugs, VI. Injection of living bacteria, and VII. Conclusion.

The reviewer selected two following Japanese studies. Hashimoto, Saito and Yajima (1934) reported that they could provocate fever in 60 % of the subclinically infected horses by the subcutaneous injection of 10 % NaCl solution (200 cc) containing gelatin in 10 %.

Ishii and Watanabe (1935) had reported that they could provocate fever and anemia in high percentage in subclinically infected horses by the intravenous injection of acetyl-phenyl-hydrazin (0.015g. per kilogram body weight).

Immunological Diagnosis of Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 89-97)

After surveying 53 references, Sekiawa, K. and Nishi, K. failed to find even a single method applicable for the practical purposes and they concluded that the existence or the absence of antibody production in E.I.A. would be decided when the method of purification or concentration of the antigen was improved following the progress in the study about the virus itself.

This chapter consists of the following contents :

I. Complement-fixation reaction, II. Precipitation

reaction, III. Lipoid fixation reaction, IV. Hemolysis (1. Iso- and Autohemolysis, 2. Hemolysis inhibition test), V. Hemagglutination, VI. KH-reaction and conglutination, VII. Allergy reaction, VIII. Anaphylactic shock reaction, IX. Other methods, and X. Conclusions.

Transmission of Equine Infectious Anemia
by Parasites
(Vol. I, Pp. 99-112)

Yamashita, J. summarized 81 reports on the transmission of equine infectious anemia by lice, black-flies, mosquitoes, stable-flies, horse-flies, flies, ticks, itch-mites, leeches, nematodes and larvae of bot-flies. The methods and results of the observation or experiment so far done by various investigators were showed in two tables. He pointed out that the experimental demonstrations of the above transmissions are very few. According to the experimental results, he recognized the undeniable fact that some flying insects especially the sucking ones, the horse-flies being the most important, transmit the equine infectious anemia.

Insisting the need of further experimental evidences in order to solve this problem, the reviewer is of the opinion, however, that the findings hitherto been obtained are not sufficient to give any decision as to whether or not the transmission by insect is an ordinary route of

reaction, III. Lipoid fixation reaction, IV. Hemolysis (1. Iso- and Autohemolysis, 2. Hemolysis inhibition test), V. Hemagglutination, VI. KH-reaction and conglutination, VII. Allergy reaction, VIII. Anaphylactic shock reaction, IX. Other methods, and X. Conclusions.

Transmission of Equine Infectious Anemia
by Parasites
(Vol. I, Pp. 99-112)

Yamashita, J. summarized 81 reports on the transmission of equine infectious anemia by lice, black-flies, mosquitoes, stable-flies, horse-flies, flies, ticks, itch-mites, leeches, nematodes and larvae of bot-flies. The methods and results of the observation or experiment so far done by various investigators were showed in two tables. He pointed out that the experimental demonstrations of the above transmissions are very few. According to the experimental results, he recognized the [illegible]nisable fact that some flying insects especially the sucking ones, the horse-flies being the most important, transmit the equine infectious anemia.

Insisting the need of further experimental evidences in order to solve this problem, the reviewer is of the opinion, however, that the findings hitherto been obtained are not sufficient to give any decision as to whether or not the transmission by insects is an ordinary route of.

~~infection of this anemia.~~

~~Pathology of Anemia in Equine Infectious Anemia~~

~~(Vol. I, Pp. 113-132)~~

One~~, X.~~ ~~surveyed 69 reports which were written with an intention of explaining the mechanism of anemia in this disease chiefly from the standpoint of~~ histopathological and hematopathological study, and classified the theories on the mechanism of anemia as ~~following~~.

(1) Theory represented by Schermer and Ziegler : In this theory anemia is explained as the result of the destruction of erythrocytes and bone-marrow by the ~~anemia~~ virus. Deficiency of the bone-marrow function induces the bone-marrow-like metaplasia in the spleen, and the deficiency of the spleen function disposing the ~~destructed~~ erythrocytes induces ~~the~~ compensation in other organs, especially in the ~~R.E.S.~~ system of the liver.

(2) Theory represented by Jaffé and Mócsy : In this theory the destruction of erythrocytes by ~~anemia~~ virus is recognized but the bone-marrow-like metaplasia in spleen and ~~in~~ liver is denied.

(3) Theory represented by Dobberstein and Ishii : ~~Anemia~~ virus gives stimuli to the cellular apparatus of mesodermal origin and ~~herewith it~~ stimulates ~~the~~ multiplication of the reticuloendothelial cells of liver and

infection of this anemia.

Pathology of Anemia in Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 115-132)

On X surveyed 69 reports which were written with an intention of explaining the mechanism of anemia in this disease chiefly from the standpoint of histopathological and hematopathological study, and classified the theories on the mechanism of anemia as following:

(1) Theory represented by Schermer and Ziegler :
In this theory anemia is explained as the result of the destruction of erythrocytes and bone-marrow by the anemia virus. Deficiency of the bone-marrow function induces the bone-marrow-like metaplasia in the spleen, and the deficiency of the spleen function disposing the destructed erythrocytes induces the compensation in other organs, especially in the R.E.S. system of the liver.

(2) Theory represented by Jaffé and Mócsy :
In this theory the destruction of erythrocytes by anemia virus is recognized but the bone-marrow-like metaplasia in spleen and in liver is denied.

(3) Theory represented by Dobberstein and Ishii :
Anemia virus gives stimuli to the cellular apparatus of mesodermal origin and herewith it stimulates the multiplication of the reticuloendothelial cells of liver and

of spleen and the multiplication of the endothelial cells of the blood-vessel in heart, kidney, lymph nodes, and lung. Mesoderm of the vascular wall reacts with the production of histiocyte-like cells, lymphoid cells and argyrophil fibers according to the strength or the duration of the stimuli. Histiocyte-like cells that appear at the earlier stage of the disease take part in the destruction and phagocytosis of the erythrocytes and by which causing anemia. Ishii reported on a substance detected in the horse serum of the febrile stage which is capable of inducing ephemeral anemia on rabbits.

(4) Yamagiwa's theory

Infectious anemia should be a sort of lymphadenosis. Those horses that die after an acute course are lymphoblastic lymphadenosis, and those that survive taking a chronic course are lymphocytic lymphadenosis.

Progress of the Pathological Studies

on Equine Infectious Anemia

(Vol. I, Pp. 133-264)

Reviewing 136 Japanese and foreign literatures, Yamagiwa, S. intended to find future course of the studies. The reviewer discussed the theme in following 6 items :

I. Outline of pathological anatomy of equine infectious anemia, II. Course and fate of equine infectious anemia, III. Pathological anatomy and histology of equine infectious

of the spleen and the multiplication of the endothelial cells of the blood-vessels in the heart, kidney, lymph nodes, and lungs. The mesoderm of the vascular wall reacts with the production of histiocyte-like cells, lymphoid cells and argyrophil fibers according to the strength or the duration of the stimuli. Histiocyte-like cells that appear at the earlier stage of the disease take part in the destruction and phagocytosis of the erythrocytes ~~and by which~~ causing anemia. Ishii reported on a substance detected in the horse serum of the febrile stage which is capable of inducing ephemeral anemia on rabbits.

(4) Yamagiwa's theory

Infectious anemia ~~should be~~ a sort of lymphadenosis. Those horses that die after an acute course are lymphoblastic lymphadenosis, and those that survive taking a chronic course are lymphocytic lymphadenosis.

~~Progress of the Pathological Studies~~

~~on Equine Infectious Anemia~~

~~(Vol. I, Pp. 133-264)~~

~~Reviewing 136 Japanese and foreign litteratures,~~ Yamagiwa ~~intended to find future course of the studies.~~ ~~The reviewer~~ discussed the theme ~~in following 6 items :~~

~~I. Outline of pathological~~ anatomy ~~of equine infectious anemia, II.~~ Course and fate ~~of equine infectious anemia,~~ ~~III. Pathological anatomy and~~ histology ~~of equine infectious~~

anemia, IV. Problems regarding the studies of equine infectious anemia, V. Theories on the pathological changes of equine infectious anemia, VI. Application of pathological changes for the diagnosis of equine infectious anemia.

Pertaining the pathological studies of equine infectious anemia In Japan, many reports have been made by " The Special Committee for the Investigation of Infectious Anaemia among Horses", by clinical hematologists of " The Veterinary Laboratory, Ministry of Agriculture & Forestry", " The Army Veterinary School " and others.

Quoted in the following are 7 main histo-pathological studies in Japan.

Nakamura, N., S. Ishii et S. Watanabe (1938) : Etude sur les lésions histo-pathologiques provoquées chez le cheval par l'anémie infectieuse. I. Quelques observations sur le système nerveux. J. Jap. Soc. Vet. Sci., 17, 64.

*Ichii, M. (1939) : Uma ni okeru seitai-senshoku no kenkyu, tokuni dempin-ba ni okeru shoken. Rikugun Jui-dan Po, no. 355, 1. (Studies on the vital staining in the horse, especially observations on the infectious anemia. J. Army Vet. Corps, no. 355, 1.).

Ishii, S., N. Nakamura & K. Nobuto (1939) : Studies on the histo-pathological changes in the horse suffering from infectious anemia. IV. Several observations

anemia, IV. Problems regarding the studies of equine infectious anemia, V. Theories on the pathological changes of equine infectious anemia, VI. Application of pathological changes for the diagnosis of equine infectious anemia.

Pertaining the pathological studies of equine infectious anemia in Japan, many reports have been made by " The Special Committee for the Investigation of Infectious Anaemia among Horses", by clinical hematologists of " The Veterinary Laboratory, Ministry of Agriculture & Forestry", " The Army Veterinary School " and others.

Quoted in the following are main histo-pathological studies in Japan.

Nakamura, N., S. Ishii et S. Watanabe (1938) : Etude sur les lésions histo-pathologiques provoquées chez le cheval par l'anémie infectieuse. I. Quelques observations sur le système nerveux. J. Jap. Soc. Vet. Sci., 17, 64.

*Ichii, M. (1939) : Uma ni okeru saitai-senshoku no kenkyu, tokuni dempin-ba ni okeru shoken. Rikugun Jui-dan Po, No. 355, 1. (Studies on the vital staining in the horse, especially observations on the infectious anemia. J. Army Vet. Corps, no. 355, 1.).

Ishii, S., N. Nakamura & K. Nobuto (1939) : Studies on the histo-pathological changes in the horse suffering from infectious anemia. IV. Several observations

on the ovary. Jap. J. Vet. Sci., 1, 328.

Ishii, S. (1939) : On the histo-pathological studies of infectious anemia in the horse. III. Observations on tissue iron and siderocytes. Jap. J. Vet. Sci., 1, 234.

*Nakamura, N., S. Ishii & K. Nobuto (1940) : Densensei-hinketsu-ba no byori-soshikigaku-teki kenkyu. II. Kogan no chicken. Jueki Chosajo Kenkyu Hokoku, 18, 144. (On the histo-pathological studies of infectious anemia in the horse. II. Observations on the testicle. Report of the Veterinary Laboratory, Ministry of Agriculture & Forestry, 18, 144.).

*Yasuda, S., H. Imaoka & T. Konda (1941) : Seitai-kanzosenshi-zairyo o motte-suru densensei-hinketsu-ba no shindan-teki kaohi. Oyo Juigaku Zasshi, 14, 25. [On the value of vital liver-puncture in the diagnosis of infectious anemia.] (J. Applied Vet. Sci., 14, 25.).

*Miura, S. & S. Yamagiwa (1943) : Densensei-hinketsu-ba no byorigaku-taki kenkyu (I). Haizo no chicken. Rikugun Jui-dan Po, no. 412, 1154. ([Pathological studies on equine infectious anemia. I. Changes of the lung.] J. Army Vet. Corps, no. 412, 1154.).

* Asterisks indicate literatures published in Japanese.

Epidemiology of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 3-24)

This review is written by Hirato, K. reviewing 136

on the ovary. Jap. J. Vet. Sci., 1, 328.

Ishii, S. (1939) : On the histo-pathological studies of infectious anemia in the horse. III. Observations on tissue-iron and siderocytes. Jap. J. Vet. Sci., 1, 234.

*Nakamura, N., S. Ishii & K. Nobuto (1940) : ~~Densensei-hinketsu-ba no byori-soshikigaku-teki kenkyu. II. Kogan no chicken.~~ Jueki Chosa to Kenkyu Hokoku, 18, 144. (On the histo-pathological studies of infectious anemia in the horse. II. Observations on the testicle. Report of the Veterinary Laboratory, Ministry of Agriculture & Forestry, 18, 144.).

*Yasuda, S., H. Imaoka & T. Konda (1941) : ~~Seitai-kanzosenshi-zairyo o motte-suru densensei-hinketsu-ba no shindan-teki kachi.~~ Oyo Juigaku Zasshi, 14, 25. (On the value of vital liver-puncture in the diagnosis of infectious anemia. J. Applied Vet. Sci., 14, 25.).

*Miura, S. & S. Yamagiwa (1943) : ~~Densensei-hinketsu-ba no byorigaku-teki kenkyu (I). Haizo no chicken.~~ Rikugun Jui-dan Po, no. 412, 1154. (Pathological studies on equine infectious anemia. I. Changes of the lung. J. Army Vet. Corps, no. 412, 1154.).

* Asterisks indicate litterature published in Japanese.

~~Epidemiology of Equine Infectious Anemia~~

~~(Vol. II, Pp. 3-24)~~

~~This review is written by Hirato, K. reviewed 136~~

references and he relates following opinions.

I. Some of the secretions and excretions (urine, milk, nasal discharge) contain virus.

II. Discussion on rise and fall of virus concentration in the blood and urine, and the possibility of the existence of inapparent form.

III. Natural mode of infection presumably caused by biting insects. Infected mares transmit the disease to their offsprings. Most of the experimental transmission of the virus by contact, secretions or excretions showed negative results. The disease is probably transmitted by copulation.

Skin infection is uncertain.

IV. In regard to the resistance between breeds and or between ages, it is difficult to arrive at any conclusion. Fatigue and deficient diet may influence the resistance to the disease.

V. Geographical and geological relation to the disease is uncertain. Seasonal and environmental factors mya influence the occurence of the disease.

VI. The use of unsterilized equipments in the injection and the injection of immune serum obtained from infected horses provoked many outbreaks in Japan. Statistics of the incidences on pastures of breeding

references and he relates following opinions.

I. Some of the secretions and excretions (urine, milk, nasal discharge) contain virus.

II. Discussion on rise and fall of virus concentration in the blood and urine, and the possibility of the existence of inapparent form.

III. Natural mode of infection presumably caused by biting insects. Infected mares transmit the disease to their offsprings. Most of the experimental transmission of the virus by contact, secretions or excretions showed negative results. The disease is probably transmitted by copulation.

Skin infection is uncertain.

IV. In regard to the resistance between breeds and or between ages, it is difficult to arrive at any conclusion. Fatigue and deficient diet may influence the resistance to the disease.

V. Geographical and geological relation to the disease is uncertain. Seasonal and environmental factors may influence the occurence of the disease.

VI. The use of unsterilized equipments in the injection and the injection of immune serum obtained from infected horses provoked many outbreaks in Japan. Statistics of the incidences on pastures of breeding

stations and remount depots show that pasturage is the main source of transmission.

Secondary Infection of Bacteria in
Equine Infectious Anemia
(Vol. II, Pp. 25-45)

Kasai, K., K. Suto, S. Miura and S. Hamada summarized 80 reports on the secondary infection of bacteria such as Streptococcus haemolyticus, Salmonella, Shigella equirulis, Mycobacterium tuberculosis, Brucella bronchi-septica, Pasteurella, colon group bacteria and protozoa in equine infectious anemia. This subject was relatively important in Japan and Manchuria during the last war. Some outbreaks of infectious anemia accompanied by the secondary infection of the commensals out of the above-mentioned bacteria were observed among the army horses and in the plants of serum producers, by some researchers in Japan. On the other hand, some workers performed experimental investigations on the mixed infection of S. abortus-equi or Shig. equirulis and anemia virus. From the results of the experiments concerning the subject, Japanese workers confirmed that horses contracting infectious anemia, when secondarily infected with even the commensals, allow the organisms to display a high pathogenic activity, and accordingly develop the severe illness due to the

stations and remount depots show that pasturage is the main source of transmission.

Secondary Infection of Bacteria in

Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 25-45)

Kasai, K., Suto, K., Miura and K. Hamada summarized 80 reports on the secondary infection of bacteria such as Streptococcus haemolyticus, Salmonella, Shigella equirulis, Mycobacterium tuberculosis, Brucella bronchiseptica, Pasteurella, colon group bacteria and protozoa in equine infectious anemia. This subject was relatively important in Japan and Manchuria during the last war. Some outbreaks of infectious anemia accompanied by the secondary infection of the commensals out of the above-mentioned bacteria were observed among the army horses and in the plants of serum producers, by some researchers in Japan. On the other hand, some workers performed experimental investigations on the mixed infection of S. abortus-equi or Shig. equirulis and anemia virus. From the results of the experiments concerning the subject, Japanese workers confirmed that horses contracting infectious anemia, when secondarily infected with even the commensals, allow the organisms to display a high pathogenic activity, and accordingly develop the severe illness due to the

secondary infection, and some of them succumb to bacillary septicaemia.

Biochemical Diagnosis of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 47-57)

After reviewing nearly 90 articles, Akazawa and Tajima concluded as follows :

It is extremely difficult to secure any specific reactions of diagnostic value so far as the biochemical diagnosis of equine infectious anemia deals with the quantitative and qualitative changes of known substances contained in the blood, serum or urine, which may have resulted from the invasion and multiplication of the virus aside from its direct influence on animals.

Present paper consists of the following articles: I. Diagnosis based on the quantitative changes of inorganic substances, II. Diagnosis based on the quantitative changes of organic substances, III. Diagnosis made by chemical reagents, IV. Diagnosis based on the quantitative changes of organic substances in the urine, V. Physical diagnosis, VI. Conclusion,

Clinical Hematology of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 59-114)

secondary infection, and some of them succumb to bacillary septicemia.

Biochemical Diagnosis of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 47-57)

After reviewing nearly 90 articles, Akazawa and Tajima concluded as follows :

It is extremely difficult to secure any specific reactions of diagnostic value so far as the biochemical diagnosis of equine infectious anemia deals with the quantitative and qualitative changes of known substances contained in the blood, serum or urine, which may have resulted from the invasion and multiplication of the virus aside from its direct influence on animals.

Present paper consists of the following articles: I. Diagnosis based on the quantitative changes of inorganic substances, II. Diagnosis based on the quantitative changes of organic substances, III. Diagnosis made by chemical reagents, IV. Diagnosis based on the quantitative changes of organic substances in the urine, V. Physical diagnosis, VI. Conclusion,

Clinical Hematology of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 59-114)

The reviewers, (MIURA, S., S. HAMADA and S. UEDA) abstracted 211 reports dealing with the heamtological changes, except those on the biochemical alterations, of the horses contracting infectious anemia. Namely they reviewed these references on the basis of following items : physical aspects, volume index, descending velocity of red cells, hemoglobin content, hemoglobin index, erythrocyte, leucocyte, blood platelet, hematological differentiation ~~of equine infectious anemia~~ from other diseases, hematological diagnosis of the disease.

~~Out~~ of the recent Japanese contributions to the morphological aspects of the blood of the horse suffering from infectious anemia, those informations on the monocyte (histiocyte) and siderocyte in circulating blood are the most attractive ones. The demonstration of ~~the latter cell~~ in jugular vein (devised by Dr. Ishii) has been used for the diagnosis of infectious anemia in Japan for the reason that siderocyte ~~is not or scarcely~~ detectable in the blood of normal horses ~~and diseased ones infected with other than infectious anemia.~~

In their discussion, the reviewers say that as nowadays they cannot find any specific alteration in the blood of this disease, it is desirable to reinvestigate the hematological changes throughout the course of the disease applying the latest cytochemical techniques.

The reviewers, (MIURA, S., S. HAMADA and S. UEDA) abstracted 211 reports dealing with the hematological changes, except those on the biochemical alterations, of the horses contracting infectious anemia. Namely they reviewed these references on the basis of following items : physical aspects, volume index, descending velocity of red cells, hemoglobin content, hemoglobin index, erythrocyte, leucocyte, blood platelet, hematological differentiation ~~of equine infectious anemia~~ from other diseases, hematological diagnosis of the disease.

Out of the recent Japanese contributions to the morphological aspects of the blood of the horse suffering from infectious anemia, those informations on the monocyte (histiocyte) and siderocyte in circulating blood are the most attractive ones. The demonstration of ~~the latter~~ cell in jugular vein (devised by Dr. Ishii) has been used for the diagnosis of infectious anemia in Japan for the reason that siderocyte is not or scarcely detectable in the blood of normal horses ~~and diseased ones infected with other than infectious anemia.~~

In their discussion, the reviewers say that as nowadays they cannot find any specific alteration in the blood of this disease, it is desirable to reinvestigate the hematological changes throughout the course of the disease applying the latest cytochemical techniques.

Clinic of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 115-138)

In this chapter Tatezawa reviewed 106 important clinical reports of this disease and described in detail the symptoms, clinical diagnosis, differential diagnosis, prognosis, course and mortality, relation of this disease to reproduction, spontaneous disorders caused by this disease, ability of exercise or labour, problem of recovery or enduring. Regarding clinical forms of this disease he has considered it is more reasonable to divide it into four forms, after Kasai and others, namely acute septicaemic form, passing form, pernicious form and latent form. In conclusion he emphasized, that the clinical diagnosis of this disease ought to be decided by the demonstration of siderocytes in circulating blood regardless of the clinical forms.

Treatment of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 139-150)

Kohanawa reviewed the treatment of the disease as follows : 1. Outline of the history on the treatment of Anemia, 2. List of about 202 remedies that have been used for the treatment of the disease, in a table arranged alphabetically referring to the number of references in parenthesis, 3. Present therapeutics of the disease

Clinic of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 115-138)

In this chapter Tatezawa, K. reviewed 106 important clinical reports of this disease and described in detail symptoms, clinical diagnosis, differential diagnosis, prognosis, course and mortality, relation of this disease to reproduction, spontaneous disorders caused by this disease, ability of exercise or labour, problem of recovery or enduring. Regarding clinical forms of this disease he has considered it is more reasonable to divide it into four forms, after Kasai and others, namely acute septicemic form, passing form, pernicious form and latent form. In conclusion he emphasized, that the clinical diagnosis of this disease ought to be decided by the demonstration of siderocytes in circulating blood regardless of the clinical forms.

Treatment of Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 139-150)

Kohanawa, M. reviewed the treatment of the disease as follows : 1. Outline of the history on the treatment of Anemia, 2. List of about 202 remedies that have been used for the treatment of the disease, in a table arranged alphabetically referring to the number of references in parenthesis, 3. Present therapeutics of the disease

and some critics by the reviewer, 4. Some discussions by the reviewer on the methods oftreatment hitherto ~~been~~ employed.

Immunity and Immunization against Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 1515-164)

Soekawa, ~~M.~~ relates after surveying 76 references that ~~the~~ massive propagation of the virus or to enhance the virus titer will be the key to succeed in acquiring an effective vaccine.

This chapter consists of the following items : I. Whether or not there exist cases tolerated the infection, II. Immunity of horses tolerated infection, III. Attitude of foals to the infection of E.I.A. virus, IV. Immunization, (i. Active immunization : 1. Formol vaccine, 2. Phenol vaccine, 3. Glycerine vaccine, 4. Bile vaccine, 5. Vaccine added with some drugs, 6. Heated vaccine, 7. Lyophilized vaccine, 8. Plasma fraction containing virus, 9. Enveloped virus, 10. Virus passaged through other animals, 11. Minute dose of the virus, ii. Passive immunization.)

Transmission of Equine Infectious Anemia to Man

(Vol. II, Pp. 165-172)

and some critics by the reviewer, 4. Some discussions by the reviewer on the methods of treatment hitherto ~~been~~ employed.

Immunity and Immunization against Equine Infectious Anemia

(Vol. II, Pp. 1515-164)

Soekawa, M. relates after surveying 76 references that ~~the~~ massive propagation of the virus or to enhance the virus titer will be the key to succeed in acquiring an effective vaccine.

This chapter consists of the following items :

I. Whether or not there exist cases tolerated the infection, II. Immunity of horses tolerated infection, III. Attitude of foals to the infection of E.I.A. virus, IV. Immunization, (i. Active immunization : 1. Formol vaccine, 2. Phenol vaccine, 3. Glycerin vaccine, 4. Bile vaccine, 5. Vaccine added with some drugs, 6. Heated vaccine, 7. Lyophilized vaccine, 8. Plasma fraction containing virus, 9. Enveloped virus, 10. Virus passaged through other animals, 11. Minute dose of the virus, ii. Passive immunization.)

Transmission of Equine Infectious Anemia to Man

(Vol. II, Pp. 165-172)

Kasai, ~~K.~~ abstracted the reports on the cases of E.I.A. in man and susceptibility of man (~~1.~~ Lührs'Case, ~~2.~~ Peters'Case, ~~3.~~ ~~2~~ Two cases found at Hannover, ~~4.~~ ~~2~~ Two cases suspected of E.I.A. and reported by Stein and Mott). And he discussed ~~on~~ the ~~following items :~~ comparison of the attitude for E.I.A. in man and in horses; susceptibility of man to E.I.A.; E.I.A. ~~on~~ from the standpoint of public health (1. products from horses and its consequence to the public health, 2. cautions for immune serum and meat derived from E.I.A. horses) (36 References).

Kasai, abstracted the reports on the cases of E.I.A. in man and susceptibility of man (1. Lührs'Case, 2. Peters'Case, 3. Two cases found at Hannover, 4. Two cases suspected of E.I.A. and reported by Stein and Mott).
And he discussed the comparison of the attitude for E.I.A. in man and in horses; susceptibility of man to E.I.A.; E.I.A. from the standpoint of public health (1. products from horses and its consequence to the public health, 2. cautions for immune serum and meat derived from E.I.A. horses) (36 References).